

# BOTANISCH-SEROLOGISCHE ONDERZOEKINGEN

## PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR  
IN DE LANDBOUWKUNDE AAN DE LANDBOUW-  
HOOGESCHOOL TE WAGENINGEN, OP GEZAG VAN  
DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. G. GRIJNS, HOOG-  
LEERAAR IN DE PHYSIOLOGIE DER DIEREN, VOOR  
EENE, — OVEREENKOMSTIG ART. 46, LID 3 VAN DE  
WET VAN 15 DECEMBER 1917 TOT REGELING VAN HET  
HOGER LANDBOUWONDERWIJS (STAATSBLAD  
No. 700), ZOOALS DIE LAATSTELIJK IS GEWIJZIGD  
BIJ DE WET VAN 29 JUNI 1925 (STAATSBLAD No. 283), —  
DAARTOE BENOEMDE COMMISSIE UIT DEN SENAAT,  
TE VERDEDIGEN OP MAANDAG 10 FEBRUARI 1930,  
DES NAMIDDAGS TE DRIE UUR, DOOR

**BOUDEWIJN KAREL BOOM**

GEBOREN TE GORINCHEM



H. VEENMAN & ZONEN — WAGENINGEN — 1930

*Aan mijn Ouders,  
Aan mijn aanstaande Vrouw.*

Dit onderzoek is tot stand gekomen in het Laboratorium voor Dierphysiologie onder leiding van Prof. Dr. G. GRIJNS. Het initiatief daartoe werd genomen door Prof. Ir. H. K. H. A. MAYER GMELIN, die naar aanleiding van de gunstige resultaten, welke ZADE bij het differentieëren van granen verkreeg, deze methode wilde naverken. Hiertoe stelde Zijn Hooggeleerde zich in verbinding met Prof. GRIJNS, wyl deze met zijn jarenlange ervaring op serologisch gebied het meest aange-wezen was om dit onderzoek aan te vangen. Nadat hierop door dezen eenige vooronderzoekingen waren verricht, was het voor mij een groot voorrecht onder zijn voortreffelijke leiding op deze basis de onderzoekingen te kunnen voortzet-ten. Ik acht het hier de plaats niet alleen daarvoor, maar ook voor de wijze waarop Z.H.G. mij als botanicus heeft inge-leid in de serologie, mijn oprechten dank uit te spreken.

Het is mij ten slotte een aangename plicht een woord van welgemeenden dank te brengen aan allen, die tot mijn vorming en aan het tot stand komen van dit proefschrift hebben mede-gewerkt.

## INHOUD.

	Blz.
I. Inleiding .....	1
II. Overzicht van de literatuur .....	2
III. Overzicht van de theorie, de techniek en de methoden .....	11
<i>a.</i> Het antigeen .....	11
<i>b.</i> Het kiezen en inspuiten der dieren.....	20
<i>c.</i> De titerbepaling .....	21
<i>d.</i> De bloedafname en serumafscheiding .....	22
<i>e.</i> De reactie .....	23
1. De precipitatie reactie .....	24
2. De agglutinatie reactie.....	25
3. De complementbindingsmethode.....	26
4. De conglutinatie reactie .....	27
5. De anaphylactische reactie.....	30
<i>f.</i> Kunstsera .....	30
IV. De werkmethode .....	34
V. De resultaten .....	42
<i>a.</i> Proeven met boonen .....	43
<i>b.</i> De Leguminosen immuunsera .....	44
<i>c.</i> De Rosaceae immuunsera .....	46
<i>d.</i> De Umbellifloren immuunsera.....	48
<i>e.</i> Het Hamamelidaceae immuunserum .....	49
VI. Het opstellen van den stamboom .....	50
VII. Conclusie .....	53
VIII. Tabellen .....	55
1. Conglutinatiereacties.....	56
2. Precipitatiereacties .....	67
3. Kunstserumreacties.....	69
Literatuurlijst .....	70

## I. INLEIDING.

Botanische serologie houdt zich bezig met het serologisch differentieëren van planteneiwitten en met het opstellen van een plantensysteem op grond van deze resultaten. Het groote belang, dat de botanische systematiek heeft bij de objectieve methode ter bepaling van de verwantschappen, was de oorzaak, dat men deze methode met beide handen aangegrepen heeft om ze te gebruiken in de systematiek. Vooral het groote succes, dat ze in de medische wetenschap had, waar reeds lang bacteriën met groote zekerheid gedifferentieerd werden, was aanleiding, de methode op botanisch gebied over te dragen.

De opvallende resultaten, die MEZ en ZIEGENSPECK en hun leerlingen verkregen, deed de serodagnostiek in het middelpunt van de belangstelling komen. Zij toch stelden een systeem op, waarbij alle moeilijkheden met één slag op eenvoudige manier overwonnen schenen; na 1925 werkten GILG en SCHÜRHOFF hun methode na, en vonden, dat de resultaten van de eersten foutief waren, waardoor de geheele methode onbruikbaar werd.

Echter is volgens mij nog niet aangetoond, dat de serodagnostiek onbruikbaar is voor de botanische systematiek, en dit was oorzaak, dat door mij eenige onderzoeken ondernomen werden, om een oordeel te verkrijgen omtrent deze kwestie. Onder leiding van Prof. GRIJNS (1928), die reeds voorloopig op dit gebied gewerkt had, werd zijn werk voortgezet, waarvan de resultaten hieronder zijn vermeld.

## II. OVERZICHT VAN DE LITERATUUR.

De medische serologie dateert van 1890, toen VON BEHRING het antitoxine van diphterie en tetanus ontdekte en daarmee de algemeen biologische wet, dat in het bloed van dieren bij inspuiten van toxine een antitoxine ontstaat, welk antitoxine het toxine onschadelijk maakt. De geldigheid van deze wet werd al gauw uitgebreid over andere stoffen. PFEIFFER (1894) ontdekte de bacteriolysinen, stoffen, die specifiek ontstaan bij inspuiten van bacteriën en welke de eigenschap hebben deze bacteriën op te lossen. EHRLICH (1895) vond de haemolysinen, stoffen, die zich als de bacteriolysinen gedragen, maar dan ten opzichte van roode bloedcellen. GRUBER en DURHAM (1896) ontdekten tegelijk met PFEIFFER en KOLLE de agglutininen, die in staat zijn bacteriën samen te ballen en uit te vlokken. KRAUS (1897) eindelijk vond de precipitinen, die na inspuiten van opgeloste stoffen ontstaan, en die deze opgeloste stoffen tot een neerslag kunnen uitvlokken (precipitaat).

EHRLICH, MORGENROTH e.a. werkten vooral de theorie van deze fenomenen uit, terwijl WASSERMANN, UHLENHUTH, WIDAL, e.a. de practische toepassingen ervan bestudeerden.

Op botanisch gebied heeft vooral KRAUS de stoot gegeven tot nader onderzoek met zijn ontdekking van de precipitinen, daar men daar in de meeste gevallen met opgeloste eiwitten werkt.

De eerste botanische objecten waren Bacteriën; het differentiëren hiervan geschiedde hoofdzakelijk bacteriolytisch en ag-

glutineerend; echter uitsluitend met medische doeleinden; de eerste planten na de bacteriën waren Blastomyceten, waarmee men echter weinig succes had; velen kregen in het geheel geen, enkelen zeer flauwe reacties (SAN FELICE 1896, SCHKIWAN 1899, BISSERIÉ 1901, MALVOZ 1901, DEFALLE 1902).

KOWARSKI (1901) hield zich het eerst bezig met hogere planten; hij trachtte granen te differentieëren, kreeg echter slechte resultaten; het serum van dieren, die tegen tarwe geïmmuniseerd waren, reageerde bv. niet met haverextract en wel met dat van erwten.

SCHÜTZE (1901, 1902) trachtte onderscheid te vinden tussen onder-, boven-, bakkers- en aardappelgist; hij gebruikte de precipitatie methode, maar kon geen verschil vinden; hij achtte de methode echter zoo precies, dat hij op grond van deze resultaten besloot, dat de gisten niet soortverschillend waren. In 1903 deed hij de proeven nogmaals, maar nu met de agglutinatiemethode, echter met hetzelfde resultaat.

BERTARELLI (1904) werkte met Leguminosen en had veel succes; hij wilde de methode voor de practijk gebruiken nl. voor het serologisch opsporen van meelvervalschingen; echter was de methode hiervoor nog te omslachtig, daar het verkrijgen van het immuunserum te lang duurde; proeven met zwammen mislukten geheel.

CITRON (1905) wilde zwammen, die de haaruitval veroorzaken (Achorion en Trichophyton sp.), differentieëren; hij kreeg goede reacties, echter vond hij de onderlinge verschillen te gering, om er een classificatie van deze schimmels op te bouwen.

MAGNUS en FRIEDENTHAL (1906) namen eveneens zwammen tot onderzoeksobjecten; de resultaten waren slechts matig, daar ze reacties verkregen van Truffels met Champignons, dus van Ascomyceten met Basidiomyceten. In 1907 gingen ze de oorzaken van de slechte resultaten van KOWARSKI na; dit vonden ze van groot belang, daar uit deze onderzoeken zou vol-

gen, dat de methode niet bruikbaar is voor de botanische systematiek. Zij herhaalden nu het onderzoek van KOWARSKI, en kregen, ofschoon ze met dezelfde methode werkten, andere resultaten.

Dan (1907b) bewezen ze verder, dat verschillende plantendeelen (zaden, pollen, wortels en spruiten) dezelfde resultaten gaven.

MIESSNER (1908) toonde Ricinus aan in voedermiddelen en beval de methode aan voor de praktijk; evenzoo RELANDER (1908).

GASIS (1908) kreeg reacties van rijst met boonen, welke eigenaardigheid opgelost werd door MAGNUS (1908), die aantoonde, dat vaak troebelingen komen met normaalserum, en dat vooral rijstextract dit sterk doet. Vooral doordat GASIS in zeer hoge concentraties werkte, traden deze troebelingen sterk op. MAGNUS filtreerde nu eerst deze normaaltroebeling af en reageerde toen nogmaals; daarna kwamen de reacties goed uit. Verder kwam hij voor het eerst op het idee om een natuurlijk systeem te bouwen op de uitslag van de precipitinereactie; hij is er ook aan begonnen, maar de resultaten waren niet zoo goed als hij dacht: „dennoch kann die Möglichkeit nicht geleuchnet werden, auch auf diese Weise weiter in den natürlichen Systematik der Pflanzen ein zu dringen". Het is jammer, dat hij niet verder gekomen is.

WILENKO (1910) wees op de neerslagen van normaalsera met plantenextracten; de complementbindingsmethode vond hij de eenigst bruikbare voor het aantoonen van verwantschappen.

BALLNER (1910) stelde verwantschappen binnen de grassen vast door middel van de complementbinding, waarschuwde voor het werken met hoge concentraties met het oog op heterologe reacties van de eiwitten.

SCHERN (1910) werkte uitsluitend voor de praktijk en toonde vreemde zaden in voedingsmiddelen aan.



STURM (1910) kon Adoxa niet van Sambucus onderscheiden. AZUMA (1910) constateerde, dat zaad- en kiemextract dezelfde resultaten geven. WENDELSTADT en FELLMER (1910) kregen resultaten als KOWARSKI, nl. boonenserum reageerde niet alleen met extract van andere Leguminosen, maar ook met dat van granen. GOHLKE (1913) vermoedt, dat een fout in deze onderzoeken geslopen is; echter lijkt mij het resultaat best mogelijk, daar ik eveneens met boonen allerlei onspecifieke neerslagen heb gekregen. Dan immuniseerden zij ook met bladextracten, echter zonder resultaat; wel gaven de extracten van bladeren en van zaad een reactie met het serum, dat door inspuiten van zaad-extract gewonnen was, echter was het immuunserum tegen bladextract met het extract van zaden onwerkzaam.

DUNBAR (1910) constateerde in tegenstelling met MAGNUS en FRIEDENTHAL (1907b), dat pollen voor antigeen ongeschikt zijn, daar hij hiermede geen resultaat kreeg; echter hebben MAGNUS en FRIEDENTHAL (1910) hun proeven nogmaals overgedaan, en kwamen zij tot het resultaat, dat DUNBAR uitgedroogde pollen gebruikt had, met welke pollen zij ook geen immuniteit verkregen.

SCHÜTZE (1911) lukte het nu eindelijk met de complementbindingsmethode tarwe- van aardappeligist te onderscheiden; boven- en ondergist bleven echter ondifferentieerbaar.

SAULI werkte in 1911 de conglutinatie methode uit, een methode, die later besproken zal worden.

BALLNER en BUROW (1911) stelden verwantschappen vast binnen de Leguminosen.

GALLI VALERIO en BORNAND (1912) werkten met Helianthus en kregen sterke reacties tot de Composieten en enkele naverwante families.

ROSENBLAT-LICHTENSTEIN (1912) experimenteerde met algen; zij kwam tot de conclusie, dat een natuurlijke differentia-

tie van algen mogelijk is door middel van de agglutinatie.

ZADE (1914) bestudeerde de reactie bij Leguminosen en granen; voor de onderscheiding van rassen hecht hij er geen waarde aan; soms gelukte zelfs ook de soortsonderscheiding niet.

FELLMER (1914) slaagde er niet in, door middel van verschillende methoden giftige en niet giftige zwammen te onderscheiden.

THÖNI en THAYSEN (1915) werkten voor de practijk, kwamen tot de conclusie, dat de methode nog beter uitgewerkt moest worden, voordat deze geschikt was om vervalschingen snel en juist op te sporen.

LIESKE (1916) waarschuwde voor de overschatting van de betekenis van de serologische methode; hij differentieerde algen; hij spoot deze als suspensies in en agglutineerde ze daarna.

Intusschen (1913) was de publicatie van GOHLKE verschenen, die een begin was van een reeks onderzoekingen, die onder leiding van MEZ doorgevoerd werd. Zij stelden zich tot doel het geheele plantensysteem door te werken en dan naar de uitkomsten van de reacties een systeem op te bouwen. De tot zoover besproken publicaties waren allen zonder verband met elkaar uitgevoerd; allen deden niets anders, dan aantoonen dat plantenextracten specifieke immuunsera gaven en dat deze specificiteit niet absoluut was, maar overgreep, d.w.z. dat de sera ook reageerden met andere nauw verwante planten.

Op deze grondslagen hebben MEZ en zijn leerlingen hun methode gebouwd, waarmee zij trachtten den geheelen stamboom der plantenfamilies op te stellen. De eerste onderzoekingen waren oriënteerend: de voornaamste families werden onderzocht en deze onderzoekingen leidden tot het eerste (voorloopige) systeem van MEZ (1914); gedurende den wereldoorlog hebben de onderzoekingen vrijwel geen voortgang gevonden, echter daarna, na 1922, stroomde het publicaties, die in 1922 tot

het tweede en in 1924 tot het 3de systeem leidden. Deze drie systemen wijken in verschillende opzichten van elkaar af, waarover hij dan ook door zijn tegenstanders heftig is aangevallen; daarbij werd echter uit het oog verloren, dat MEZ voor het meerendeel wijzigingen aanbracht, die verbeteringen waren, op grond van latere onderzoekingen en wijzigingen, die noodzakelijk waren, daar het onderzoekingsmateriaal later veel uitgebreider was. Vele families, die eerst op den hoofdstam gelegen waren, verhuisden naar zijtakken, dit, wijl de hoofdstam aangeeft de ontwikkeling van oervormen, waaruit de tegenwoordige families zich ontwikkeld hebben, die dus op de zijtakken moeten liggen.

Na GOHLKE kwamen dan verschillende anderen: LANGE (1914) behandelde de Ranales, PREUSS (1914) de Parietales, MEZ en GOHLKE (1914) stelden op grond van de gevonden resultaten hun eerste systeem op; KIRSTEIN (1918) onderzocht daarna de Gymnospermae, ALEXNAT (1922) de Sympetalae, HOFFMANN (1922) de Columniferae, MALLIGSON (1922) de Centrospermae, WORSECK (1922) de Monocotyledones, MEZ (1922) gaf een „Anleitung” met het tweede systeem, KOHZ (1923) behandelde de Rosales, GUTTMANN (1924) de Archegoniatae, RAEDER (1924) hield de verschillende dubieuze gevallen op; STEINECKE (1925) behandelde de algen, OTTENSOOSER (1925) de zwammen, MISCHKE (1925) nogmaals de Gymnospermae. Van hier af kwam er een geheel andere geest in de werken van MEZ en zijn leerlingen; zij werkten alle onderzoekingen nog eens na, en hechtten niet meer alleen waarde aan de serodagnostiek, maar riepen de morfologie erbij; zij trachtten dan aan te toonen, dat de morfologische feiten en de serologische uitkomsten elkaar volkomen dekken. Echter waren ze nog slechts vaak genoodzaakt algemeen aangenomen feiten omver te werpen. ARZT (1926) behandelde in dien zin de gersten, CONRADI (1926) de varens, MIELINSKI (1926) de mossen, REUTER (1926) de Parietales, NEUHOFF en

ZIEGENSPECK (1926) de zwammen, ANKERMANN (1927) de Monocotyledones, BITZEK (1928) de Centrospermentak.

Hiertusschen door verschenen theoretische werken van MEZ en ZIEGENSPECK (1926), die bij de behandeling van de hoofdstukken ter sprake komen.

Tot 1925 hebben deze publicaties weinig tegenspraak gevonden; toen echter kwam er verzet; deels van diegenen, die zich niet met de door MEZ aangenomen verwantschappen konden vereenigen, en daardoor de methode als onbruikbaar beschouwden, deels van diegenen, die de methode aanvielen, deze naverkten en op grond van tegengestelde resultaten deze als onbruikbaar verklaarden en zoo het geheele systeem van MEZ als onjuist beschouwden.

Onder de eersten neemt WETTSTEIN (1925) de voornaamste plaats in; hij wijst erop, van welk een groot belang de serodiagnostiek voor de plantensystematiek kan zijn; echter moeten de resultaten elkaar niet tegenspreken en mogen zij niet tot morphologische onmogelijkheden voeren; vooral is hij het niet eens met de aansluiting van de Angiospermen aan de Pinaceae. Hij vindt dan verder, dat de onderzoekingen van MEZ een basis kunnen vormen voor nader onderzoek.

Een geheel andere toon slaat STOLLEY (1925, 1926, 1927) aan, die in zijn geschriften over de Psilophyten over de serodiagnostiek oordeelt en dit voor onmogelijke onzin verklaart; dit alleen, omdat de uitkomsten van MEZ niet dezelfde zijn als zijn morphologische overdenkingen.

Dan SCHÜSSNIG (1925), die de algenexperimenten van STEINECKE (1925) aanvalt; dat laatste geen reinkulturen gebruikte, zou een fundamenteele fout zijn, waaruit de „krasser Dilettantismus” zou blijken van de geheele school van MEZ. Hij heeft het dan over de „Schnellschiede Phylogenie, die in den deutschen Fachliteratur nicht geduldet werden darf”.

STEINECKE verdedigt zich hiertegen in „Botanisches Echo” (1925): reinkulturen acht hij hier niet noodzakelijk, daar het oriënteerende onderzoekingen zijn; deze verdediging is natuurlijk zwak.

WÄCHTER (1927) schrijft dan twee pamphletten tegen MEZ om de „verregaande onzin” van de serodiagnostiek aan de kaak te stellen. De toon hiervan is buitengemeen oncollegiaal: hij zegt bv. dat elke stad zoo zijn merkwaardigheid bezit; zooals men Strassburger Gänzeleberpastei en Frankfurter Würstchen heeft, heeft men ook de Königsberger Stammbaum.

Tot de tweede groep van bestrijders behooren in de eerste plaats GILG en SCHÜRHOFF, die evenals MEZ een „Sammelforschung” op touw zetten en merkwaardig genoeg juist tot tegengestelde resultaten komen; ze verklaren nl. de geheele methode voor onbruikbaar; de methode geeft zeer zeker in een aantal gevallen goede uitkomsten, echter zoo vaak onjuiste, dat zij geen betrouwbare aanwijzing geeft voor de verwantschap.

BÄRNER (1927) behandelt de Disciflorae, HELWIG (1927) de Centrospermae, HUHNS (1927) de Sympetalae, NAY (1927) de Rosales, ZARNACK (1927) de Ranales, EISENTRÄGER (1928) de Gymnospermae, FRANZ (1928) de Monocotyledones, WERMUND (1928) de Rhoeadales, SASSE (1928) en NAHMMACHER (1929) werken de kunstsera na.

Zooals gezegd komen allen tot geheel andere resultaten als MEZ en zijn leerlingen. Op de methode en de kritiek zal nader in de verschillende hoofdstukken ingegaan worden.

Verder is er nog oppositie van HANNIG en SLATTMAN (1928) en SLATTMAN (1928); zij vinden, evenals de Dahlemsche school tegenstrijdige resultaten en komen ook tot de conclusie, dat geen van de toegepaste methoden geschikt is voor het opstellen van verwantschappen.

Het nieuwst is MORITZ (1928, 1929), die meent, dat men voorzichtig moet zijn met de resultaten van de oppositie, daar deze niet

te vergelijken zijn met die van MEZ, daar deze diens methode niet gevolgd heeft. Hij wijst op de sterke divergenties, die bij de verschillende auteurs voorkomen; de oorzaak ligt volgens hem in het feit, dat de Berlijners met een twaalf maal minder gevoelige reactie werken dan de Koningsbergers. De extracten zijn niet goed bereid, zijn ook niet met alcohol behandeld. „Demnach sind in Zukunft die Berliner Arbeiten nur noch als kritische Referate zu werten, denen experimenteller Wert fehlt.” (1928. p. 443).

MEZ en zijn medewerkers hebben zich in het begin tegen de eerste aanvallen verdedigd in „Botanisches Echo”, het referatendeel van „Botanisches Archiv”; zij bespreken verschillende publicaties zeer uitvoerig, en zijn van meening, dat deze in het geheel niet tegen hun resultaten in gaan; zeer veel reacties stemmen goed overeen en diegene die niet overeenstemmen, zijn verkregen door foutief werken. De hoofdoorzaak van de verschillen zou dan gelegen zijn in het feit, dat de oppositie de methode niet beheerscht en daardoor fouten maakt. Dit is zeer gemakkelijk gezegd; ik kan echter niet aannemen, dat grove fouten als bv. slordig fijnmaken van de zaden, zoodat deeltjes van het eene zaad in het andere komen, door serieuze werkers kunnen worden gemaakt; indien het echter geschiedt, zal het slechts enkele malen voorkomen en niet alle resultaten in de war sturen.

### III. OVERZICHT VAN DE THEORIE, DE TECHNIEK EN DE METHODEN.

#### *a. het antigeen.*

Bij de bespreking hiervan komen al dadelijk fundamenteele vraagstukken op den voorgrond: nl. 1. wat is het antigeen en 2. hoe krijgt men het.

*ad* 1. Onder antigeen verstaan we de specifieke stoffen, die aanleiding geven tot het ontstaan van daarop ingestelde afwe-rende stoffen. De specificiteit van het antigeen is het fundament van de geheele serodiagnostiek; het is dus van belang te weten, wat dit antigeen eigenlijk beteekent.

Bij het opstellen van een stamboom langs serologischen weg, neemt men aan, dat elke plant specifieke stoffen heeft, die als antigeen werken en verder, dat tusschen deze specifieke stoffen grootere biologische verschillen bestaan naarmate de planten, waarin zij voorkomen verder phylogenetisch uiteenloopen, m.a.w., dat er een correlatie bestaat tusschen de structuur der antigenen en de eigenschappen der plantenspecies.

Om dit antigeen af te zonderen, moet men in de eerste plaats weten, waar het zich bevindt. MEZ neemt nu aan, dat het een eiwit is, dat zich in de celkern bevindt; dit op grond van het feit, dat eiwitten, die niet aan een kernhoudend weefsel ontleend zijn (als voorbeeld haalt hij aan lenzen- en vogeleiwit) ook geen specifieke sera geven. Echter is er uit de publicatie van GALLI VALERIO (1911) gebleken, dat vogeleiwit wel differentieerbaar is: hij kon verwantschappen aantonen van eiwit van verschillende vogels. Daarbij komt nog, dat melk en bloedserum, die



ook geen kernen bevatten, ook specifieke sera geven: het specifieke antigeen kan bij deze stoffen toch moeilijk in de kern gelegen zijn! Dan spreekt nog tegen deze opvatting, dat zeer vele serologische experimenten genomen zijn met zaadeiwit; de zaadcellen zijn opgevuld met reserve voedsel en de kern is ten opzichte van de rest zeer klein; men werkt dus met zeer veel en verschillende eiwitstoffen en het is volstrekt niet zeker, of hier juist alleen het kerneiwit de specifieke reactie zou geven. Verder komt MEZ in strijd met de theorie van BUCHNER, die hij zelf aanhangt. Deze zegt nl., dat de antistoffen in het dierlijk lichaam niet ontstaan, zooals EHRLICH meent als reactieproduct van de cel op de ingespoten stof, maar als afbraakproduct van het antigeen zelf; deze afbraak zou dan geschieden door het complement en de afweerfermenten. Indien men nu zeer kleine hoeveelheden inspuit (en dit doet men, wanneer het antigeen zich alleen in de kern bevindt) dan kunnen er onmogelijk zooveel afbraakproducten ontstaan, dat een hoogen titer bereikt kan worden.

MEZ is natuurlijk niet alleen door het lenzeneiwit tot zijn opvatting gekomen; het zijn meer de theoretische beschouwingen, die hem daartoe brachten. Hij gaat nl. van het standpunt uit, dat de oorzaak van de variatie van de planten gelegen is in de eiwitmoleculen van de chromosomen, die zeer gecompliceerd zijn en waarin gemakkelijk kleine intramoleculaire verschuivingen kunnen plaats hebben, waardoor de moleculen veranderen; elke verandering van een dergelijk molecuul heeft een kleine verandering in de eigenschappen van de plant tot gevolg. „Geht das Gesetz der Variation und damit der phylogenetischen Entwicklung der Formenkreise auf das Eiweiss zurück, so werden wir wohl, wenn wir die Eiweisseigenschaften als Kriterium bei der Forschung anwenden vermögen, eine gewisse Aussicht haben, das Problem der phylogenetischen Verknüpfung der organischen Erscheinungsformen mehr an der Wur-



zel zu fassen, als dies beim Studium weiter abgeleiteter Wirkungen der lebendiger Substanz, nämlich der morphologischen Eigenschaften möglich ist. Dieser Satz ist eine der Grundlagen der experimentellen Phylogenie. Sein Beweiss kan allerdings allein auf induktivem Weg geführt werden" (MEZ, Bot. Arch., 1926 XVI. 4.)

Alle variabiliteit beschouwt hij dus uitsluitend als een gevolg van scheikundige veranderingen in het chromosomeneiwit.

Dit eiwit zou nu tegelijk de drager van de serologische reacties zijn; het bewijs kan hij niet geven: „Alles aber, was bisher bekannt wurde, spricht dafür, dass dieselben Verbindungen, welche die Träger der Vererbung sind, auch die Träger der sero-diagnostischen Verwandtschaftsreaktionen darstellen."

Indien men volgens deze opvatting tot goede resultaten zou willen komen, zou men eigenlijk de chromosomen moeten uit-prepareeren en deze als antigeen gebruiken; dit is natuurlijk onmogelijk en moeten we dus naar andere middelen uitzien.

ZIEGENSPECK (1926) meent dit chromosomeneiwit gemakkelijk te kunnen oplossen; hij werkt met zeer sterke verdunningen; de concentratie van het eiwit in de celkern zou veel groter zijn dan die van het protoplasma en dus zou er volgens hem bij kort extraheeren meer kerneiwit oplossen dan protoplasmaeiwit. Dit is echter lang niet zeker; het is in de eerste plaats de vraag, of het specifieke eiwit wel in grotere concentratie in de kern aanwezig is; waarschijnlijk zitten er in de celkern ook nog wel andere eiwitten dan alleen specifieke. In ieder geval zijn er in zijn oplossing (hij neemt 0.1 gr. poeder op 20 cc physiol. NaCl opl. en digereert een kwartier) zeer weinig specifieke stoffen aanwezig en nu is het zeer eigenaardig, dat hij hiermede zulke hoge immuniteiten verkrijgt; het is toch de medische ervaring, dat men met te geringe concentraties weinig of geen immuniteit krijgen kan. MEZ wil echter van de medici niets weten: „Bei Mediziniern kann man botanische Serologie nicht lernen" schrijft

hij in zijn referaat over Helwig (Bot. Echo p. 185); echter vermoed ik, dat hij het er ook wel geleerd heeft.

In ieder geval heeft MEZ in zijn oudere onderzoekingen met zaden gewerkt en mijn proeven zijn ook daarop gebaseerd; daar nu, zooals reeds gezegd, het eiwit der celkern verreweg in de minderheid is ten opzichte van de rest van het eiwit, is het toch waarschijnlijker, dat naast dit celkerneiwit nog andere aanwezig zijn, die dezelfde werking hebben; dit zijn dan de eiwitten, die eveneens als antigeen kunnen werken. Wij nemen dus ook de reacties van deze eiwitstoffen waar.

Ook lijkt het mij zeer onwaarschijnlijk, dat een dier alleen op de inspuiting van het chromosomeneiwit van een plant, die voor hem volkomen onverschillig is, zou reageeren en niet op de andere eiwitten.

Een kwestie, die hiermede samenhangt, is die van de eiwitconvergentie. Hieronder verstaat men het feit, dat serologisch verschillende eiwitten van twee plantensoorten bij de verdere phylogenetische ontwikkeling zoodanige veranderingen ondergaan, dat zij met eenzelfde immuunserum reageeren. In de morphologie is deze convergentie een van de moeilijkste problemen; de oplossing hiervan blijft altijd subjectief; indien men nu in de serologische methode een objectief criterium wil hebben, dan zou eiwitconvergentie niet met de morphologische convergentie mogen samengaan en ook niet onafhankelijk van de morphologische convergentie mogen voorkomen.

ZIEGENSPECK (1926. p. 234) bewijst nu eerst, dat dit laatste niet het geval is. Hij reageert met planten, die morphologisch convergent zijn als *Opuntia*, *Euphorbia*, *Stapelia* en *Mesembrianthemum*, dan *Equisetum*, *Ephedra* en *Casuarina* verder *Vaccinium*, *Polygala* en *Evonymus*, ten slotte *Helianthus*, *Phyteuma*, *Dipsacus*, *Lonicera* en *Valeriana*. In al deze gevallen bleek duidelijk, dat morphologische en serologische convergentie niet samen gaan. Echter een bewijs, dat serologische convergentie

niet voorkomt, heeft hij niet gegeven: het eenige, dat hij er van mededeelt, is, dat de „Hunderttausenden von Reaktionen” het uitgewezen hebben. Indien serologische convergentie voorkwam, dan zou dat onmiddellijk gebleken zijn door het reageeren van planten, die niet verwant waren.

Dit is niet in overeenstemming met wat MEZ en ZIEGENSPECK in 1925 schrijven:

„Ist aber bei dem gewonnenen Serum ein plötzliches Sinken der Reichweite zu beobachten, oder ergeben sich Trübungen auch mit Kontrollen, die nach ihrer systematischen Stellung unmöglich reagieren können, so rührt dies von dem übergrossen Gehalt an Alexinen und der von diesen bewirkten Immunkörperbildung in vitro (siehe oben) aus den zugegebenen fremden Eiweissstoffe bei. Ein solches Serum ist unbrauchbar” (MEZ en ZIEGENSPECK 1925. p. 197).

Hieruit blijkt, dat zij de sera, die reacties zouden geven, die *wel* op eiwitconvergentie zouden wijzen, als onbruikbaar beschouwen.

*ad 2.* Om nu de specifieke stof voor het immuniseeren van het dier te krijgen, kan men verschillende plantendeelen gebruiken; het meest heeft men zaden genomen: de eerste en tweede stamboom van MEZ zijn hiermede geheel opgesteld. Verder kan men vegetatieve deelen nemen, daar deze in verhouding meer kerneiwit bevatten. WENDELSTADT en FELLMER (1911) deden dit het eerst; echter hadden ze er niet veel resultaat mede; GUTTMANN (1924) toonde uitvoerig met behulp van varens aan, dat sporen en bladeren dezelfde uitkomsten gaven.

Verder werd nog gebruikt: perssap (FELLMER 1914) of de geheele plant (LIESKE 1916, STEINECKE 1925).

De bereiding van de antigenen is over het algemeen bij de verschillende auteurs dezelfde: plantendeelen worden fijngemalen, zooveel mogelijk van ballaststoffen ontdaan; dan volgt alcohol-aetherextractie (zie hieronder); daarna digereeren van

een hoeveelheid plantenpoeder met physiol. NaCl opl. (0.85 %); de concentraties, digereertijden enz. zijn verschillend. Aanvankelijk nam men de concentraties vrij sterk, echter is men daarvan teruggekomen, wegens het sterke reageeren der dieren; ook meende ZIEGENSPECK (1926), dat hierdoor te veel onspecifiek eiwit in oplossing ging in verhouding tot het specifieke. De verdunning voert hij zelfs zoover door, dat hij plantenpoeder aanzet 1 : 200 en dit niet langer digereert dan een kwartier; eiwitreactie is dan met geen enkel reagens meer aan te toonen; toch is hij niet de eenige, die goede immuniteiten, met dergelijke oplossingen verkrijgt. (MISCHKE 1925, NAY 1927).

Het kan echter voorkomen, dat met NaCl in het geheel geen eiwit oplost; in dat geval kan men NaOH 0.1—1 % nemen. PREUSS (1913) toonde aan, dat dit oplosmiddel geheel dezelfde resultaten geeft als NaCl. Het is echter niet zoo goed, daar er nog veel meer ballaststoffen in oplossing gaan; vaak verkrijgt men een donkergekleurde vloeistof. Voor de reacties is NaOH echter niet aan te bevelen.

Eenige onderzoekers trachten het specifieke eiwit te isoleeren door het een lange chemische behandeling te laten ondergaan (GASIS 1908, ZADE 1914, THÖNI en THAYSEN 1915, ARZT 1925). Echter is deze methode vrij gevaarlijk, daar men niets weet omtrent eventueele veranderingen, die onder invloed van deze stoffen plaats gehad hebben; dan weet men ook in het geheel niet, of men werkelijk het specifieke eiwit geïsoleerd heeft; dit is zelfs zeer waarschijnlijk niet het geval; er zal vermoedelijk altijd nog wel een mengsel van eiwitten overblijven.

In plaats van oplossingen worden in den laatsten tijd in Koningsbergen ook wel emulsies van plantendeelen in olijfolie ingespoten; dit geschiedt dan altijd intraperitonaal; het voordeel zou zijn, dat er veel sneller immuniteit wordt verkregen.

Een tweede belangrijk punt is dat van de eiwitconcentratie van het antigeen. Vooral wanneer men werkt met niet te lage

concentraties, moeten de eiwitverdunningen in de te vergelijken oplossingen ongeveer gelijk zijn. Dit is echter een moeilijk punt, daar er geen reactie bestaat, die het specifieke eiwit quantitatief aantoonst. Meestal wordt gebruik gemaakt van het reagens van ESBACH (1% pikrinezuur en 1% citroenzuur). Dit heeft echter het groote nadeel, dat men hier in het geheel niet weet, wat er neergeslagen wordt; of andere stoffen dan eiwit, of niet alle eiwitten; oorspronkelijk is het reagens samengesteld om eiwit in de urine aan te toonen; daar is echter gewoonlijk het eiwit hetzelfde, zoodat die uitkomsten te vergelijken zijn; in plantenextracten zitten daarentegen telkens weer andere eiwitsoorten; bovendien worden niet alle eiwitten en wordt niet uitsluitend eiwit neergeslagen.

Niet veel beter is de methode van GILG en SCHÜRHOFF, die normaal konijnenserum met een druppel salpeterzuur koken (1 : 200); ze bepalen hiervan de troebeling en maken er een verdunningsreeks van, die ze als schaal gebruiken; met deze schaal worden dan op gelijke wijze verkregen troebelingen van de eiwitoplossingen vergeleken. Men heeft hier echter dezelfde bezwaren als bij het reagens van ESBACH: alle eiwitten worden over één kam geschoren.

Andere onderzoekers (ZADE 1914, ARZT 1924) gebruiken microkjeldahl; dan bepalen ze echter het stikstofgehalte en alle stikstof behoeft nog niet als eiwit aanwezig te zijn.

ZIEGENSPECK (1926) meent al deze klippen te kunnen omzeilen, door, zooals reeds vermeld is, in hooge verdunningen te gaan werken. Men zou dan volgens hem alleen het specifieke chromosomen eiwit hebben en de concentraties zouden daarvan niet veel uiteenloopen, doordat hij zeer kort extraheert.

Een verder punt van groot gewicht voor het welslagen van de proeven is de *alkoholextractie*. De oudere onderzoekers geven hieromtrent weinig aan; de meesten behandelen waarschijnlijk de stof niet voor, maar gebruiken dan de reactie niet voor ver-

strekken de doeleinden. MEZ wijst voor het eerst pas op de belangrijkheid van deze extractie in 1925, echter alleen voor het geval, dat de zaden rijk zijn aan vetten en aetherische oliën; veel verder gaat ZIEGENSPECK (1925), die een geheele alcoholkuur aanbeveelt: hij wrijft eerst de plantendeelen met wijnsteenzure alcohol (2 %) stuk, giet het meermalen af en droogt dan het poeder; hierna komt nog eens het na ontvetten: 5 uur omschudden met alcohol 70 % en dan met aether naspoeien; deze bewerking wordt drie maal herhaald. Hij raadt dit aan om de lipoiden en vetten te verwijderen, daar deze voortdurend met normaalserum een neerslag geven; deze zijn dus oorzaak van onspecifieke troebelingen. Een verder voordeel van deze alcoholbehandeling is de sterilisatie van het poeder.

Deze alkoholextractie heb ik nauwkeurig nagewerkt met het gevolg, dat er absoluut geen eiwit overbleef, en dat ik er absoluut geen immuunserum mede kon verkrijgen. Dit resultaat is echter niet te verwonderen; want wanneer wij afzien van de eiwitten, die in 70-80 % alcohol oplossen (prolaminen), worden alle eiwitten bij langere inwerking van alcohol (zelfs van 70 %) gedenatureerd en onoplosbaar gemaakt voor water of zoutoplossingen. Er blijft dus niet veel oplosbaar eiwit meer over; dat nu juist het specifieke eiwit niet in alcohol zou oplossen en ook niet onoplosbaar in zoutoplossing gemaakt zou worden, is toch wel wat onwaarschijnlijk; dat ZIEGENSPECK met deze extracten nog iets bereikt, is mij een volkomen raadsel. In het extract is ook in het geheel geen eiwit meer met ESBACH aan te toonen; echter is dit bij ZIEGENSPECK ook niet het geval.

Echter bleek in een aantal extracten, dat, als geen alcohol gebruikt werd, in alle buisjes onspecifieke troebelingen optraden, zoowel bij de precipitatie als bij de conglutinatie. Nadat echter deze poeders met alcohol behandeld waren, gaven de meeste geen onspecifieke troebelingen meer; tevens bleek, dat de reactie geheel verdween, als te lang met alcohol was behandeld.



Er zijn echter altijd nog extracten overgebleven, die na de behandeling nog deze troebelingen gaven; in dit geval kon met dat zaad natuurlijk niet geëxperimenteerd worden.

Het bezwaar van de school van Berlin-Dahlem, dat de controles bij de conglutinatie en bij de precipitatie niet langer dan vier uur helder gehouden konden worden, spruit dan ook waarschijnlijk voort uit het feit, dat door hen geen alkoholextractie is toegepast; troebelingen als zij beschrijven, zijn bij mij eveneens voor gekomen; ze verdwenen echter voor het meerendeel na de behandeling met alcohol.

Deze alcoholbehandeling paste ik nu als volgt toe: het gemalen zaad werd gedurende twee uur met alcohol omgeschud; na afschenken werd het overgoten met aether en hiermede werd één uur geëxtraheerd; de poeders werden gedroogd en in goed gesloten flesschen bewaard. De proeven heb ik nu steeds zoo ingericht, dat ze in twee series verliepen: één met extract van zaad, dat niet, en één met extract van zaad, dat wel voorbehandeld was.

Dat bij te lange alkoholextractie heelemaal geen reactie meer intreedt, moge blijken uit het volgende:

Poeder van *Myrrhis odorata* werd verschillende tijden met alcohol behandeld: nl. 0, 2, 4, 12 en 24 uur; daarna werd het poeder met aether en vervolgens op de gewone manier met physiol. NaCl opl. geëxtraheerd en hiermede werden de conglutinatie reacties gedaan met immuunserum van *Myrrhis odorata*, die het volgende resultaat gaven: <sup>1)</sup>

niet	2 uur	4 uur	12 uur	24 uur
- 1 3 2 3	- 1 2 2 3	- - 1 2 2	- - - 1 1	- - - - -
- 1 1 2 2	- - 1 2 3	- - - 1 2	- - - - 1	- - - - -
- - 1 1 4	- - 1 1 2	- - - 1 2	- - - - -	- - - - -
- - - - 4	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
- - - - 4	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -

<sup>1)</sup> Voor de beteekenis van de cijfers zie p. 39.

Indien men nu alle poeders twee uur behandelt, krijgt men volkomen vergelijkbare resultaten; hoe het mogelijk is, dat ZIEGENSPECK zulke goede resultaten heeft verkregen met zijn lange alcohol-behandeling, is mij niet duidelijk. Op allerlei wijzen en meerdere malen heb ik getracht reacties te verkrijgen, maar telkens is dit mij mislukt; toch heb ik mij voortdurend aan de door hem beschreven methode nauwgezet gehouden.

*b. Het kiezen en inspuiten der dieren.*

Als proefdieren neemt men meestal konijnen; deze zijn verreweg het gemakkelijkst in het gebruik; op het ras konijn wordt in den regel niet gelet; de individualiteit speelt echter bij de immunisatie een groote rol: verschillende individuen reageeren vaak zeer verschillend, waardoor het noodzakelijk wordt om altijd met eenige dieren tegelijk te werken in dezelfde proef. Dit heeft mede nog het voordeel, dat, wanneer de dieren niet sterven en een goed serum geven, men meer dan één antiserum krijgt van dezelfde plant; hiermede kan men controleproeven doen.

De voornaamste vragen, die zich bij het inspuiten voordoen, zijn: wáár in te spuiten, hoeveel en hoe vaak. Wat het eerste betreft, heeft men de keus tusschen aderen, buikholte of onderhuidcelweefsel; de onderhuidsche inspuitingen worden echter weinig toegepast, daar zij vaak aanleiding geven tot (allergische) necrose van de huid. Inspuitingen in de buikholte of in de aderen zijn daarentegen veel toegepast, ook vaak afwisselend bij hetzelfde dier.

Omtrent de hoeveelheid en de hoe vaakheid kan men niets bepaalds zeggen; de eene stof immuniseert gemakkelijk, de andere moeilijk, sommige zelfs in het geheel niet; het eene dier laat zich ook gemakkelijker immuniseeren dan het andere. Krijgt men in het geheel geen immuniteit, wat nog al eens voorkomt,



dan is het het beste om een andere plant uit dezelfde familie te nemen, en hiermede de inspuitingen bij een ander dier te herhalen.

Meestal spuit men elke 3—5 dagen 3—6 cc in en doet dit 6 maal; vaak stijgt men langzamerhand in hoeveelheid. Langer dan 15 maal inspuiten heeft geen invloed meer op de immuniteit; zelfs gaat deze dan vaak achteruit.

Het kan voorkomen, dat de dieren sterven onder invloed van het inspuiten; de oorzaken hiervan zijn dan zeer verschillend; in geval van giftige stoffen doet men het best het poeder eerst met alcohol te behandelen (hierover op p. 19). Echter sterven de dieren ook vaak aan anaphylaxie; hiertegen is weinig te doen. Soms is de doodsoorzaak onbekend en dan ligt het meestal in het feit, dat het dier reeds ziek was, en onder invloed van de inspuitingen gestorven is.

### *c. De titerbepaling.*

Dit onderdeel is zeer belangrijk, daar men moet weten, hoe sterk het immuunserum na eenige inspuitingen (meestal 6) geworden is, d.w.z. hoeveel immuunstoffen er in het bloed aanwezig zijn; deze bepaling geschiedt met de gewone precipitatie reactie (zie p. 24). Men maakt een reeks verdunningen 1 : 100, 1 : 800, 1 : 1600, 1 : 3200, 1 : 6400, 1 : 12800 en 1 : 25600) van het extract, waarmee men immuniseerde en men voegt hierbij een druppel van het immuunserum. Men ziet nu, hoever de reactie gaat en men noemt dan de titer *die* verdunning, waarin de reactie nog net te zien is.

De titers van de sera tegen verschillende planten liggen ver uiteen; de oorzaak hiervan is in de eerste plaats gelegen in de eigenschappen van de plant, maar ook in de individualiteit van het dier; vandaar, dat verschillende dieren met dezelfde plantenextracten vaak verschillende titers geven.

Dan is merkwaardig, dat de verschillende onderzoekers zulke verschillende resultaten krijgen. Over het algemeen krijgt men in Dahlem veel lagere titers dan in Koningsbergen. ZARNACK (1927) bv. immuniseerde verschillende konijnen tegen Magnolia en kreeg verschillende, doch lage titers, en rekende uit, dat de titer, die LANGE (1913) bij Magnolia verkreeg, veel te hoog was (1 : 25600, tegen 1 : 3200 bij ZARNACK); hij concludeerde dit uit de vergelijking van verschillende reacties van LANGE met zijn eigen onderzoekingen (p. 184)

#### *d. De bloedafname en serumafscheiding.*

De bloedafname geschiedt op verschillende methoden, al naar gelang de hoeveelheid, die men hebben wil. Voor de titerbepaling heeft men slechts weinig bloed nodig en hiervoor kan men het beste wat bloed uit de oorvene tappen.

Het oor wordt dan geschoren en gewasschen met zeepspiritus en alcohol. Op de basis van het oor wordt een watje met xylol gelegd, waardoor de bloedvaten sterk uitzetten; daarna wordt een klein sneetje gegeven in één van de venen, waarvan men het best de randvene kan nemen. Deze is kleiner dan de middelste en het bloed, dat opgevangen wordt in een centrifugebuisje, behoeft niet eerst over het oor te stroomen. Hierdoor voorkomt men, dat er vuiltjes, haren enz. inkomen.

Heeft men echter veel serum nodig, dan is men meestal genoodzaakt het dier geheel te ontbloeden; de methoden hiervoor zijn zeer vele; beschrijving hiervan geeft MANTEUFFEL (1928); de door mij toegepaste methode volgt later (p. 36).

De hoofdzaak is, dat het bloed steriel opgevangen wordt; na het stollen scheidt men het serum af door centrifugeeren; om het complement onwerkzaam te maken, moet men het serum verwarmen op 56° C. gedurende een half uur; daarna wordt  $\frac{1}{2}$  % carbol toegevoegd om het serum te conserveeren.

### *e. De reactie.*

Met de reactie toont men aan, of er verwantschap tusschen twee planten is. Daar er bij serumreacties altijd een groot aantal onspecifieke reacties kunnen optreden, is het van groot belang te weten, wanneer een reactie specifiek is. Een reactie kunnen we specifiek noemen, als het antiserum ook bij een hoogen titer geen neerslag geeft met eiwitoplossingen van niet verwante planten; in hoogere concentraties behoeft dit niet zoo te zijn, daar elk serum met vrijwel elke eiwitoplossing een neerslag kan geven. Zoo komen we dan op het gebied van de zgn. normaal-troebelingen, die in de botanische serologie in den laatsten tijd zulk een grooten rol spelen. De Dahlemsche school ontdekte namelijk, dat deze normaal-troebelingen zeer veel voorkwamen; dit voorkomen was trouwens reeds lang bekend; zij deden reacties van extract met een bepaald antiserum en met normaal-serum en vonden, dat de reactie in sommige gevallen evenver, soms zelfs met normaalserum verder ging.

Nu waren GILG en SCHÜRHOFF niet de eersten, die dit zagen, maar zij hechtten er voor het eerst waarde aan. Nadat oudere auteurs er reeds op gewezen hadden (BERTARELLI 1904), ging MAGNUS (1908) er verder op in; hij filtreerde de normaalneerslagen af en reageerde nu op immuniteit met de filtraten. KOKETSU (1917) en KOJIMA (1922) deden dit ook; ook de school van MEZ vond deze troebelingen; echter hechtten zij er weinig waarde aan, en schreven er vrijwel niet over.

Het meest uitvoerig hierover hebben HANNIG en SLATTMAN (1928) gewerkt. In de eerste plaats constateerden zij, dat de normaalring en de immuniteitsring twee geheel verschillende ringen zijn, die boven elkaar optreden. De bovenste ring is meer melkwit de onderste meer geelachtig. Het optreden van deze normaalring bleek afhankelijk te zijn van den zuurgraad van de oplossing: zij voegden een buffermengsel toe (phosphaatmeng-

sel) met verschillenden zuurgraad en nu bleek, dat bij pH 6, 5 de normaalring het best verdween m.a.w., dat de reactie moet verlopen in een  $\pm$  neutraal milieu.

Deze fosphaatmethode heb ik niet toegepast, daar ze niet noodig was. De geheele school van Dahlem en tevens HANNIG en SLATTMAN werken in zeer geconcentreerde oplossingen en zoo is niet te verwonderen, dat er normaalringen optreden.

1. de precipitatie reactie. Deze reactie is de meest eenvoudige: na het inspuiten van het antigeen wordt er in het bloed een tegenstof gevormd (precipitine), welke tegenstof de eigenschap heeft met het antigeen uit het plantenextract tot een neerslag (precipitaat) uit te vlokken. Men verdunt hiertoe de extracten, zooals reeds besproken is bij de titerbepaling (p. 21); daarna giet men voorzichtig het serum in de buisjes, waardoor het zware serum langs den wand van het buisje naar beneden zakt en onder het extract komt te liggen. Op het grensvlak zal zich nu een ring vormen (UHLENHUTH'sche ring); deze ring ontstaat echter alleen in hogere concentraties; na een half uur wordt gezien, of zich ringen gevormd hebben en dan doorgeschied; de buisjes worden dan in een broedstoof bij  $37^{\circ}$  C. gezet en dan na  $11\frac{1}{2}$  uur nagekeken. Tevens zijn nog enkele controles aanwezig nl.: extract met physiol. NaCl opl., serum met physiol. NaCl opl. en normaalserum met extract. Deze drie moeten natuurlijk geheel helder blijven. Indien één van deze troebel wordt, dan moet de geheele proef als mislukt beschouwd worden.

Nu is het merkwaardig, dat GILG en SCHÜRHOFF met deze precipitatiereactie niet over weg kunnen. Het lukt hun namelijk niet om de controles gedurende 12 uur helder te houden; de oorzaak hiervan blijkt niet uit hun publicatie; ik heb zelf deze reactie ook gedaan met groot succes; van troebel worden der controles was geen sprake.

Om deze troebelingen te omzeilen, hebben ze een andere

methode uitgedacht, die echter geheel op hetzelfde neerkomt; zij noemen deze de capillairmethode. Zij reageeren in zeer nauwe buisjes (ongeveer 3 mm doorsnede, dus nog geen capillairen) en schenken voorzichtig het immuunserum op verdunningen van het extract; echter gaan deze verdunningen lang zoo ver niet als in Koningsbergen; zij werken dus alleen bij hogere concentraties. Zij kijken dan verder alleen maar naar de ringreactie; ze lezen af gedurende 2 uur elke 10 minuten.

Met deze methode krijgen ze nu andere resultaten dan in Koningsbergen; dit is echter niet te verwonderen. De geheele methode is anders; juist de concentraties, waartegen MEZ waarschuwt, gebruiken zij; het is toch bekend, dat sera met allerlei extracten een neerslag kunnen geven, maar dat de immuunreacties nog in veel grootere verdunningen tot stand komen dan de overigen; indien men nu juist gaat reageeren binnen het gebied der niet specifieke reacties, dan moet men wel verkeerde resultaten krijgen.

Hier blijkt dus duidelijk uit, dat de resultaten, verkregen met de capillairmethode nooit te vergelijken zijn met die, die verkregen zijn met de precipitatie reactie volgens MEZ. Met de kritiek, die de onderzoekers in Dahlem op MEZ geven, dient men dus voorzichtig te zijn.

2. de agglutinatie reactie. De agglutinenen werden in 1896 tegelijk door GRUBER en DURHAM en door PFEIFFER en KOLLE ontdekt. Kleine deeltjes (bacteriën, roode bloedlichaampjes) worden door deze agglutinenen samengekleefd en neergeslagen. De reactie is evenals bij de precipitatie specifiek. De methode is het meest gebruikt voor het identificeeren van bacteriën en bijna uitsluitend voor medische doeleinden; voor de beantwoording van phylogenetische vraagstukken is de methode weinig toegepast.

Alleen voor die planten, die in hun geheel kunnen reageeren,

als algen en eencellige schimmels is de agglutinatie gebruikt. SANFELICE (1896), SKCHIWAN (1899), BISSERIE (1901) en MALVOZ (1901) hadden weinig succes met het differentieeren van Blastomyceten. SCHÜTZE kon er geen gisten mee van elkaar onderscheiden.

Goede resultaten verkregen echter LIESKE (1916) en ROSENBLAT-LICHTENSTEIN (1912) met algen. STEINECKE (1925) keurde op grond van zijn proeven de agglutinatie methode af, omdat hij in de controles met normaalserum dezelfde samenballingen kreeg als bij de immuunsera.

3. de complementbindingsmethode. Deze methode is gebaseerd op het door GENGOU en MORESCI ontdekte feit, dat, als in een oplossing een antigeen en een daarbij behorende amboceptor aanwezig zijn, zij het complement binden; dit gebonden complement is dus niet meer beschikbaar voor een andere reactie. Om nu aan te toonen, dat het complement verdwenen is, maakt men gebruik van roode bloedcellen met daarop ingestelde haemolysine; een dergelijk mengsel noemt men een haemolytisch systeem; om dit te verkrijgen immuniseert men gewoonlijk een konijn tegen schapenbloedlichaampjes.

Heeft men nu een specifieke amboceptor, dan kan men daarmee nagaan, of in een ander extract of in een serum het antigeen, dat daarmee overeenkomt, aanwezig is, door een hoeveelheid complement (meestal versch caviaserum) bij het mengsel van de amboceptor en de te onderzoeken stof te voegen; na eenigen tijd wordt dan nagegaan met het mengsel van roode bloedlichaampjes en haemolytisch serum of er nog vrij complement aanwezig is, wat blijkt uit het doorzichtig worden van de vloeistof.

Door WASSERMANN, NEISSER en BRUCK werd deze methode voor de luesdiagnose uitgewerkt.

Deze methode is in de botanische serologie zeer weinig gebruikt wegens haar omslachtigheid; men moet konijnen immu-



niseeren tegen plantenextracten, anderen met schapenbloed; bij de uitvoering van de reactie moet men er dan nog versch schapenbloed en caviaserum bij hebben.

FELLMER (1914) differentieerde er zwammen mede; echter met weinig succes. LIESKE (1916) vond de methode zeer precies; hij werkte met algen. SCHÜTZE (1911) kon er gisten mede differentieeren, welke differentiatie hem met nog geen enkele andere methode gelukt was.

MEZ eindelijk waarschuwde voor deze methode, daar zij te specifiek is; het zgn. overgrijpen van de reactie, waarop de geheele botanische serologie berust, komt hierbij weinig tot uiting.

4. de conglutinatie reactie. In 1906 vonden BORDET en GAY, dat in het serum van het rund een stof aanwezig is, die de eigenschap heeft roode bloedlichaampjes van cavia of mensch, die te voren met een „substance sensibilatrice” (amboceptor) voor dat bloed en met alexine (complement) in aanraking zijn gebracht te doen samenballen en bezinken, voordat zij worden opgelost. Deze stof wordt door verwarming tot op 56° C. niet onwerkzaam gemaakt. Zij noemden haar „colloïde de boeuf”.

BORDET en STRENG (1909) bestudeerden de eigenschappen van deze stof verder en noemden haar „conglutinine” en het verschijnsel „conglutinatie”.

Deze stof werd alleen nog maar in runderbloed aangetoond; bloed van cavia, paard en mensch bevatten haar niet.

STRENG (1909) vond, dat ook bacteriën, die met een bacteriolytisch serum en complement in aanraking geweest waren, door de conglutinine werden neergeslagen.

De conglutinine verschilt van de agglutininen, doordat er een specifieke amboceptor en complement bij noodig zijn; ook kan men uit geïnactiveerd runderserum door roode bloedcellen of door bacteriën de amboceptoren wegnemen. In de vloeistof,

die dan na centrifugeeren verkregen wordt, kan men de conglutinine nog aantoonen.

Daar deze zoowel op verschillende bloedsoorten als bacteriën werken (mits specifieke amboceptor en complement aanwezig zijn), zijn zij niet specifiek; maar daar voor hunne werking het noodig is, dat een antigeen, het daartegen werkzame antilichaam en complement aanwezig zijn, kan men, als twee van deze drie voorkomen, in eenig mengsel met behulp der conglutinatie nagaan of ook het derde in een andere oplossing aanwezig is. Hieruit volgt tevens, dat men deze reactie kan gebruiken bij de complementbindingsmethode in de plaats van een haemolytisch systeem.

BARIKINE (1910) constateerde, dat conglutinine niet alleen op het trias roode bloedcel, amboceptor, complement reageerde, maar dat ook een opgelost antigeen, zoodra dit met zijn amboceptor en complement aanwezig was, door het conglutinine werd neergeslagen. Hij plaatste extracten met amboceptor in verschillende verdunningen bij 37° C, en voegde na 2 uur versch runderserum toe. Na korten tijd ontstond dan uit een zwakke troebeling een vlokkig neerslag.

SAULI (1911) grondde hierop een methode om plantaardige eiwitten te differentieren; hij werkte met dezelfde methode als BARIKINE; hij kon ook geïnactiveerd runderserum gebruiken, als hij er dan versch cavia- of paardenserum bijdeed. Zijn conclusie was, dat de conglutinatie een scherper reactie is dan de precipitatie; zij geeft in veel sterker verdunde extracten nog neerslagen dan de precipitatie reactie doet.

Mez heeft nu deze methode geheel overgenomen; echter is hij van meening, dat de conglutinatie slechts een „methodologische Variation” van de precipitatie reactie zijn zou. De oorzaak van deze foutieve gedachte is gelegen in het feit, dat MEZ geen goed inzicht heeft in het wezen van de precipitine reactie: „Bei der Immunisation wird durch ein eingespritztes, art-



fremdes Eiweiss (Antigen) ein im Serum des Versuchstieres in Lösung bleibender Eiweiss-Körper (Amboceptor) gebildet, welcher bei Gegenwart eines unbekannten thermo-labiles Eiweiss-Körpers des Serums (Komplement) mit einer Lösung des Antigens sich zu einem unlöslichen, deshalb ausflockenden Eiweiss-Körper ergänzt." Hij zet er dan nog wel bij, dat dit de „Erörterung" van de EHRLICHsche theorie is.

Indien dit zoo ware, dan zou een precipiteerend serum na inactivatie geen precipitaat meer kunnen geven, wanneer niet versch serum werd toegevoegd.

Het is natuurlijk best mogelijk, dat de precipitatiereactie, die geen complement noodig heeft, in groote verdunningen gemakkelijker uitvlokt, wanneer complement aanwezig is; daar echter alleen runderbloed conglutinatie teweeg brengt, is er toch geen enkele reden om niet aan te nemen, dat het de conglutinine zou zijn, die het neerslag doet ontstaan.

Hij wijst dan verder op het enorme voordeel van deze methode boven de precipitatie, daar zij gemakkelijker uitvoerbaar is en veel minder serum verbruikt. Hij en zijn medewerkers gebruiken altijd de precipitatie en de conglutinatie naast elkaar.

MANTEUFFEL (1928) spreekt van de „Mezsche Reaktion", daar hij nog niet zeker weet, wat de reactie eigenlijk is; hij vermoedt ook, dat het een versterkte precipitine reactie is; verder gaat hij er niet op in.

WERMUND (1928) heeft in Dahlem de methode nagewerkt en komt tot het resultaat dat zij onbruikbaar is voor de bepaling van verwantschappen. Zijn voornaamste argument is hiervoor, dat zijn reacties, evenals de controles binnen den afleestijd dikke troebelingen te zien geven; met de oorzaak van deze troebelingen houdt hij zich niet verder bezig. Dergelijke resultaten zijn bij mij vrij veel voorgekomen, echter verdwenen er verscheidene, nadat de plantenpoeders met alcohol behandeld waren.

De bespreking van de methode volgt op p. 37.

5. De anaphylactische reactie. Anaphylaxie is de toestand van overgevoeligheid van dieren, die ontstaan kan na inspuiting van meestal geringe hoeveelheden eiwit. Deze overgevoeligheid komt tot uiting bij een herhaalde inspuiting van dezelfde stof door het meestal plotseling optreden van krampen, benauwdheden, polsverlaging en temperatuurdaling. In vele gevallen gaat het dier na korten tijd dood. Het merkwaardige van het verschijnsel is, dat de reactie specifiek is, d.w.z. dat de ziekte alleen optreedt na het inspuiten van dezelfde stof, als bij de eerste inspuiting werd gebruikt, of van een naverwante. Hierdoor kan men dus van de reactie gebruik maken om verwantschappen aan te toonen.

Een dier, bij voorkeur een cavia, wordt anaphylactisch gemaakt door inspuiting van een kleine hoeveelheid zaadextract; na eenigen tijd spuit men een ander eiwit in en ziet of er anaphylaxie optreedt. Is dit het geval, dan is er biologische verwantschap tusschen de beide eiwitten.

Men kan ook dieren passief anaphylactisch maken door deze bloed van een anaphylactisch dier in te spuiten; men krijgt dan meer dieren, die anaphylactisch voor dezelfde stof zijn, waardoor men meer reacties kan doen. De methode is weinig toegepast; de oorzaak hiervan is, dat zij te veel dieren eischt; ook weet men nooit zeker, wanneer een dier het sterkst anaphylactisch is, vooral daar hier de individualiteit een belangrijke rol speelt, en men dus altijd een aantal dieren voor dezelfde proef moet gebruiken.

#### *f. kunstsera.*

Kunstsera zijn het eerst gemaakt door MEZ en ZIEGENSPECK (1925), die op dit denkbeeld kwamen door de theorie van BUCHNER over het ontstaan van de immuunlichamen; deze laatste zouden volgens BUCHNER ontstaan als afbraakproducten van de antigenen; deze afbraak zou dan geschieden door het

complement en de afweerfermenten, die altijd in normaal bloed aanwezig zijn. Volgens MEZ zou voor deze afbraak nu het levende lichaam niet noodzakelijk zijn, het zou evengoed „in vitro” kunnen geschieden.

Nu zou het bloed van dieren, die een anaphylactische schok doorstaan hebben, volgens MEZ zeer rijk zijn aan deze fermenten en ligt het dan dus voor de hand, dat het bloed van dergelijke dieren zeer geschikt is om antigenen af te breken tot immuunlichamen; m.a.w., dat dergelijk bloed zeer gemakkelijk kunstserum zal vormen. Hij maakte nu dieren anaphylactisch met het extract van planten, die systematisch zoo ver verwijderd zijn van de te onderzoeken plant, dat verwantschapsreactie is uitgesloten; hiervoor werden wieren gekozen; daarna werd het serum van dat dier behandeld met zaadextract van Cucurbita en na een week bleek werkelijk, dat er zoo een anti-Cucurbitaserum was ontstaan!

Later bleek, dat het niet noodig was, bloed te nemen van een anaphylactisch dier, wat de uitvoering zeer vereenvoudigde. Hun opvatting drukten ze het duidelijkst uit in den volgende zin: „Die Alexine und Abwehrfermente des normalen, besser noch eines idiosynkratischen oder anaphylaktischen Tieres sind im stande die artfremden Eiweissstoffe ab zu bauen. Diese Abbaustoffe oder zum mindesten ein bestimmtes Stadium der sich beim Abbau entwickelnden Kette besitzen die Eigenschaft als Immunkörper zu wirken. Sie sind spezifisch” (p. 191).

Verder trachtten zij de volkomen gelijkwaardigheid van deze kunstsera met de natuursera te bewijzen; ze waren er zelfs zoo enthousiast over, dat zij van meening waren, dat de betekenis der kunstsera weldra grooter zou zijn dan die van de natuursera. „Die Bedeutung der Kunstsera für die Verwandtschaftsforschung wird bald grösser werden als die der Natursera (p. 191).... Wir haben gefunden, und dies sei ganz besonders hervorgehoben, dass die Kunstsera für unsere Untersuchungen

sich besser eignen, als die natürlichen Sera, weil sie viel besser differenzieren'' (p. 198).

Dit haal ik evenals MEZ bijzonder naar voren, daar mijn onderzoeken geheel het tegendeel uitwezen; mijn reacties waren vrijwel alle van dien aard, dat het onmogelijk was, verwantschappen aan te wijzen tusschen verschillende planten.

De techniek voor het bereiden van de kunstsera volgens MEZ en ZIEGENSPECK is zeer eenvoudig: 2 cc antigeen in de verdunning 1 : 200 wordt gemengd met 0.8—1.6 cc geheel helder niet haemolytisch runderserum; onder dagelijks omschudden blijft dit 8 dagen in een broedstof bij 37° C staan. Tevens zijn er 2 controles: 2 cc extract met 0.8—1.6 cc physiol. NaCl opl. en 2 cc physiol. NaCl. opl. met 0.8—1.6 cc normaal runderserum. Deze twee moeten natuurlijk helder blijven. Na 8 dagen wordt het verdund (10 maal) met physiol. NaCl opl. en 2—8 cc versch runderserum toegevoegd. Dit doen zij om het verbruikte complement weer aan te vullen, daar MEZ van de mijns inziens verkeerde voorstelling uitgaat, dat voor de precipitatie ook complement noodig is. Later geeft ZIEGENSPECK (1926) een ander recept, dat niet veel van het eerste afwijkt: hij mengt 3 cc extract 1 : 200 met 1 cc versch runderserum en na 8 dagen wordt dit verdund met 20 cc physiol. NaCl opl..

Met deze recepten hebben MEZ en zijn medewerkers sedert 1926 hun voornaamste proeven genomen; hoe het komt, dat deze resultaten zoo goed zijn, is niet duidelijk.

SASSE (1928) en NAHMMACHER (1929) hebben deze proeven herhaald en kwamen ook tot de conclusie, dat indien men precies zoo handelt als MEZ en ZIEGENSPECK aangeven, men tot onbruikbare resultaten komt; zij kregen in het geheel geen of een zeer geringen titer; dan reageerde het kunstserum met de meest verschillende planten en ook met normaalserum. Echter moet ik er op wijzen, dat zij weer met de zgn. capillairmethode hebben gewerkt; dat er dus veel onspecifieke neerslagen kwamen,

behoeft dus niet te liggen aan het kunstserum; tevens kregen zij zeer veel troebelingen in de controles, een bewijs, dat vele proeven van hen onbruikbaar zijn; dergelijke proeven bewijzen natuurlijk niets tegen de methode. In ieder geval is door hen niet uitgemaakt, of de kunstsera waarde hebben voor de serodiagnostiek.

GRIJNS (1928) heeft hierna enkele onderzoeken gepubliceerd, waaruit blijkt, dat de waarde van de kunstsera vrijwel nihil is; hij deed de proeven van MEZ zeer nauwkeurig na: eerst reageerde hij binnen de grassen, met het gevolg, dat de sera of met alle of met geeneen gras reageerden; proeven met andere planten genomen verliepen precies eender: terwijl sommige sera niet reageerden met de extracten, waaruit zij ontstaan waren, gaven zij wel neerslagen met geheel vreemde planten. Hij komt ook tot de conclusie, dat er bij de kunstera geen specificiteit te constateeren is.

Door mij zijn zijn proeven voortgezet; de methode behoef ik niet meer te beschrijven, daar deze geheel dezelfde is, als MEZ en ZIEGENSPECK voorschrijven; hier en daar heb ik andere verhoudingen genomen, om te zien, of daarmee nog iets te bereiken was; het resultaat was echter ook negatief. De kunstsera heb ik zooveel mogelijk trachten te verkrijgen van de planten, waarmee ik ook natuurlijke sera maakte, om een vergelijking tusschen de resultaten te kunnen trekken; dit is echter niet mogelijk geweest. Hoe het mogelijk is, dat MEZ en ZIEGENSPECK met deze methode zulke goede resultaten kunnen bereiken is mij volkomen onduidelijk; of hebben zij haar niet goed beschreven?

In ieder geval blijkt uit onze proeven, dat de kunstsera geen betekenis hebben voor de serodiagnostiek; dit is zeer te betreuren, daar de techniek van de methode er zeer door vereenvoudigd zou worden.

#### IV. DE WERKMETHODE.

Er is in de eerste plaats zooveel mogelijk naar gestreefd de experimenten van Koningsbergen zoo volledig mogelijk na te volgen; immers dit is toch de eenige methode om de resultaten van hen te beoordeelen.

De extracten werden deels uit zaden deels uit groene deelen bereid. De zaden werden met een gewone zaadmolen tot een fijn poeder gemalen, waarbij er zoo nauwkeurig mogelijk op gelet werd, dat de poeders niet verontreinigd werden met andere poeders; de molens werden dan ook na elk gebruik zeer zorgvuldig schoon gemaakt; tevens werd gelet, dat niet te veel afvalstoffen als vruchtwanden enz. meegemalen werden. Met dit fijnmalen heb ik weinig moeite gehad; was een zaad te klein of leverde het te weinig op, dan nam ik zaden van een andere plant uit dezelfde familie. Groene deelen werden eerst met wijnsteenzure alcohol (2 %) fijn gewreven tot een dikke brei en daarna gedroogd.

Beide poeders werden na deze behandeling gedurende 2 uur met alcohol (70 %) geextraheerd; te lange alkoholextractie, zooals ZIEGENSPECK (1926) aanbeveelt, heb ik achterwege gelaten om reeds besproken redenen (p. 19). Het extraheeren geschiedde eenvoudig door het poeder met de alcohol in een fleschje te laten staan en het telkens om te schudden; daarna werd de alcohol afgegoten en de natte massa met aether in extractieapparaten behandeld gedurende één uur. Hierna werd het poeder gedroogd en bewaard in goed gesloten flesschen.



Voor de antigenen werden uitsluitend zaadextracten gebruikt; dit is niet in overeenstemming met de latere werkmethode van MEZ; de eerste onderzoeken van hem zijn echter geheel en al geschied met zaden en de stamboom van 1922 is daarop gebaseerd; mijn zaadexperimenten zijn dus volkomen voor vergelijking vatbaar. De antigenen werden als volgt bereid: 4 gr. poeder op 40 cc physiol. NaCl opl. gedurende 2 uur digereeren; dan affiltreeren. Dit laatste ging niet altijd even gemakkelijk: eerst door een zuigfilter, zoo noodig eenige malen; is dan het filtraat nog niet helder, dan centrifugeeren. Dit laatste geeft in bijna alle gevallen een heldere vloeistof; is deze echter nu nog niet helder, dan is het het beste een ander zaad te nemen uit dezelfde familie. Dergelijke resultaten heb ik vooral verkregen met *Phaseolus multiflorus*, *Silene altaica* en *Agrostemma Githago*. Een filterkaars kan ik niet aanbevelen, daar hier vrijwel al het eiwit in blijft zitten; ook fijne filters zijn verkeerd, daar deze de samenstelling van het filtraat veranderen.

Bij het inspuiten komt de helderheid van het filtraat er niet zoo veel op aan; het voornaamste is dan, dat er geen grove deeltjes in zitten, die verstopping van kleinere bloedvaten zouden kunnen geven (embolie).

Ingespoten werden konijnen van het gewone landras; liefst witte, daar bij deze de venen in het oor zeer gemakkelijk te zien zijn, wat het inspuiten zeer vergemakkelijkt. Het inspuiten geschiedde steeds intraveneus in één van de oorvenen; deze inspuitingen werden 6 maal herhaald met tusschenpoozen van 5 dagen en met telkens grootere hoeveelheden nl. resp. 2, 3, 4, 5 en 6 cc. Intraperitoneale en subcutane injecties werden door mij niet toegepast. Na de 6de injectie werd proefbloed afgenomen op de boven beschreven manier (p. 22), waarbij er goed op gelet werd, dat het bloed steriel werd opgevangen. Na stolling werd het bloed afgecentrifugeerd en het serum met een pipet afgezogen; van dit serum werd dan de titer bepaald (p. 21).

Bleek nu, dat de titer nog niet voldoende was, dan werd nog eenige malen ingespoten (weer 6 cc om de 5 dagen); dit werd zoolang herhaald, totdat de titer voldoende hoog was. Opgemerkt moet worden, dat deze titer na ongeveer 15 injecties niet meer vooruit, zelfs eerder achteruit gaat; dit is ook reeds door vorige onderzoekers geconstateerd.

Indien nu het bloed goed was, dan ging ik over tot het volledige ontnemen van het bloed; voor dit doel werden de halsslagader en halsader blootgelegd; eerst werd dan de ader, wanneer deze uitgebloed was de slagader door geknipt. Op deze wijze verkreeg ik het meeste bloed; het werd steriel in wijdmondsche stopflesschen opgevangen, die gedeeltelijk met kralen gevuld waren. Ofschoon zoo steriel mogelijk gewerkt werd, is toch steeds  $\frac{1}{2}$  % carbol toegevoegd. Er zijn nog vele andere manieren om bloed af te nemen; MEZ laat het dier in de borstkas leegbloeden en zuigt dan met een pipet het bloed eruit; deze methode is echter veel lastiger.

Door afcentrifugeeren werd het serum gewonnen; dit werd dan een half uur op  $56^{\circ}$  C verwarmd om het complement onwerkzaam te maken; daarna werd  $\frac{1}{2}$  % carbol toegevoegd om het te conserveeren. Dit conserveeren is zeer aan te bevelen, daar de duur van het serum er aanmerkelijk door verlengd wordt; door het telkens afnemen van kleine hoeveelheden serum (die noodig zijn voor de proeven) is het zeer moeilijk de voorraad steriel te houden. Door het carbol kunnen bacteriën zich nu niet ontwikkelen. Verder wordt het serum in de ijskast bewaard.

Om gelijke resultaten te verkrijgen heb ik zooveel mogelijk met gelijke titers gewerkt; dit werd verkregen door te sterke sera te verdunnen.

Het extract, dat voor de reacties moest dienen, werd gemaakt van zaden of van groene deelen op de boven beschreven manier (p. 15). Het komt er echter zeer op aan, dat de extracten glashelder zijn; indien dit niet het geval was werd dit niet gebruikt.



Met dit helder maken heb ik vrij veel last gehad; de centrifuge gaf weer uitstekende resultaten. Echter geschiedde het nog al eens, dat een geringe troebeling overbleef; ik heb dan steeds zaden van andere planten genomen. Dergelijke troebele extracten zijn bij de groene plantendeelen in het geheel niet voorgekomen.

Het eiwitgehalte van de extracten werd bepaald met het reagens van ESBACH; door verdunnen werden deze gehalten aan elkaar gelijk gemaakt om de reacties zooveel mogelijk onder dezelfde omstandigheden te laten verlopen; extracten met een te laag eiwitgehalte werden niet gebruikt. Een uitzondering hierop vormden de extracten uit groene plantendeelen; hierbij was het eiwitgehalte zonder uitzondering zeer gering. De resultaten zijn daarom in een aparte lijst vereenigd.

De precipitatie- en conglutinatiesmethode heb ik steeds naast elkaar toegepast; het is gebleken, dat deze methoden elkaar aanvullen. Voor de precipitatie nam ik de verdunningen 1 : 400, 1 : 800, 1 : 1600, 1 : 3200, 1 : 6400, 1 : 12800 en 1 : 25600, daarnaast de controles 1 : 400, 1 : 3200 en 1 : 25600, die alle drie met normaalserum behandeld waren. Dit werd gedaan ter controleering van de resultaten. Enkele druppels serum werden daarna voorzichtig bij deze extracten gedaan, zoodat het serum langs den wand van het buisje naar beneden ging en onderin bleef liggen. Daarna werd afgewacht, of er een UHLENHUTH'schen ring verscheen; na  $\frac{1}{2}$  uur werd omgeschud en na  $11\frac{1}{2}$  uur afgelezen.

De conglutinatiemethode heeft tegenover de precipitatiemethode het voordeel, dat zij niet zoo lang duurt en veel minder serum gebruikt. Hier wordt niet het extract, maar het serum verdund; van dit laatste wordt een verdunningsreeks gemaakt: zes buisjes worden met 1 cc extract bedeed en daarna met 0.08, 0.02, 0.01, 0.005, en 0.000 cc serum vermengd. Deze kleine hoeveelheden werden eenvoudig verkregen door het

serum op bepaalde wijzen te verdunnen. Later heb ik steeds de nieuwere methode van ZIEGENSPECK (1926, p. 227) toegepast, die met druppels werkt. In het eerste buisje komen dan twee druppels onverdund serum; in het tweede één druppel, waarna 2 cc serum verdund worden met 6 cc physiol. NaCl. opl.; hiervan komen in het derde buisje 2 druppels en in het vierde één druppel. Nogmaals wordt 1 cc van dit serum verdund met 1 cc physiol. NaCl opl. en hiervan komt in het vijfde buisje één druppel, terwijl het zesde buisje één druppel normaalserum krijgt.

Wanneer men nu gebruik maakt van een normaaldruppelteller, die druppels geeft van  $1/20$  cc, dan krijgt men in de buisjes resp. 0.1, 0.05, 0.025, 0.015, en 0.00625 cc serum. Deze hoeveelheden komen met de vorige methode ongeveer overeen; de werkmethode is echter veel eenvoudiger.

Dit mengsel plaatste ik gedurende 2 uur in een broedstoof bij  $37^{\circ}\text{C}$ . en behandelde ik na afloop daarvan met  $\frac{1}{2}$  cc. versch normaal runderserum. Dit werd goed doorgeschud en weer in de stoof gezet. Afgelezen werd dan na 20', 40', 60', 90' en 120'. De troebelingen werden dan opgeteekend.

Beide methoden zijn, zooals reeds gezegd is, steeds naast elkaar toegepast en meestal beide in twee series nl. met extract, dat niet en dat wel met alcohol was voorbehandeld; de resultaten zijn achterin weergegeven.

Er werd verder gewerkt met zeer zuivere materialen; veel zorg werd bv. besteed aan het schoonmaken der molens, waardoor voorkomen werd, dat verschillende poeders verontreinigd werden met andere; verder aan het schoonmaken van de buisjes. Voor de reacties werden zgn. WIDAL'sche buisjes gebruikt; deze werden niet gesteriliseerd, maar grondig schoongemaakt met kaliumbichromaat en zwavelzuur. MEZ heeft bezwaren tegen het steriliseeren: hij is van oordeel, dat tijdens het verwarmen de wanden van de buisjes stoffen adsorbeeren, die dan later on-

specifieke reacties zouden kunnen geven. Echter lijkt mij dit wel wat ver gezocht: door het steriliseeren worden toch vermoedelijk de eiwitten wel gedenatureerd. Ik heb echter niet gesteriliseerd, omdat het gemakkelijker was het niet te doen; indien maar goed schoongemaakt is, behoeft men niet bang te zijn voor verdere verontreinigingen. Verder duren de reacties zoo kort, dat de invloed van bacteriën, die de reactie zouden kunnen beïnvloeden, zeer gering is; we kunnen die dus verwaarloozen.

Het noteeren van de resultaten is verder nog een punt van groot belang; het beste is natuurlijk, in een tabel het geheele verloop van de reactie weer te geven. Dit is door mij dan ook steeds geschied op voorbeeld van de eerste publicaties van MEZ. De horizontale lijn geeft dan weer de uitkomst van de reactie in de verschillende verdunningen en de verticale lijn den tijd van af lezen, waarbij de cijfers 1, 2, 3 en 4 de graden van neerslagen aangeven; een streepje beteekent, dat er geen reactie is.

ZIEGENSPECK voerde echter in 1926 een nieuwe methode in: hij telt de uitslagen in de vertikale lijn op (echter niet in graden, alleen positief of negatief) en krijgt dan één reeks getallen. Hier wordt dan dus alleen aangegeven, of een reactie verloopt of niet; de intensiteit van deze reactie wordt niet aangegeven. Tevens noteert hij omgekeerd, dus van rechts naar links: 5 4 3 2 1 wil dus zeggen, dat na 2 uur in alle buisjes reactie was, na 90 minuten in 4 buisjes, na 60 minuten in 3 enz.

Mij is echter gebleken, dat in verschillende dagen eenzelfde reactie niet precies eender verloopt, dat het verschil wel niet erg groot is, maar toch zoo groot, dat men niet, zooals ZIEGENSPECK wil, voor elke reactie een specifieke rij getallen kan opstellen. Tevens kan er ook een belangrijk verschil ontstaan, wanneer men met verschillende immuunsera van eenzelfde plantensoort reageert. Met een voorbeeld wil ik dit toelichten: *Pisum sativum* immuunserum reageerde als volgt met

de volgende planten: (de cijferrijen zijn dus volgens de methode van ZIEGENSPECK opgesteld)

Planten	1ste dag	2de dag	3de dag
Galega officinalis .....	4 4 4 2 1	4 4 3 2 1	4 4 3 1 1
Oenothera Lamarckiana .....	2 1 0 0 0	3 2 1 0 0	2 1 0 0 0
Sorbus americana .....	4 3 1 0 0	4 3 2 1 0	4 3 2 1 0
Prunus cerasus .....	4 4 3 2 0	4 3 2 1 0	4 4 3 2 1

Het verschil is dus onderling niet zeer groot, maar hier en daar blijkt, dat differentiatie onmogelijk is: bv. op den tweeden dag reageert Pisum precies even sterk met Sorbus americana als met Prunus cerasus, terwijl dit op andere dagen niet het geval is. Indien men nu slechts één proef doet en het resultaat van den tweeden dag verkrijgt, en men gaat dan een stamboom opstellen, dan krijgt men geheel verkeerde uitkomsten. Er blijkt dus duidelijk uit, dat het niet mogelijk is, dat men voor een bepaalde reactie een bepaalde cijferreeks kan opstellen. Tevens moet men voorzichtig zijn met het apprecieeren van de verschillen van twee verschillende reacties: indien men, zooals ZIEGENSPECK doet, verschillende families in den stamboom wil plaatsen naar enkele gegevens, dan komt men verkeerd uit.

Een voorbeeld, hoe hij zijn conclusies trekt, is nog het volgende (1925, p. 245): Vanuit een Picea centrum <sup>1)</sup> bereikt hij de verschillende onderstaande geslachten; de eerste cijferkolom verkreeg hij met natuurlijk serum, de tweede kolom met kunstserum.

Picea .....	5	3	4	2	6	5	4	2
Abies .....	5	4	2	0	6	5	4	2
Pinus .....	5	4	3	2	4	—	—	1
Pseudolarix.....	5	5	5	5	5	—	2	0

<sup>1)</sup> Onder een centrum verstaan de Koningsberger auteurs een familie, waarvan een plant gebruikt is om immuunserum te maken.

Deze verschillen zijn mijnsinziens voor het meerendeel te klein om er een stamboom mede op te stellen; dan zijn de resultaten niet geheel zuiver: bijvoorbeeld is volgens de eerste kolom *Picea* meer met *Pseudolarix* verwant dan met *Picea* zelf; in de tweede kolom kunnen we *Picea* en *Abies* niet van elkaar onderscheiden, terwijl het verschil in de eerste kolom zeer groot is. ZIEGENSPECK vindt de tweede kolom nu een „Sicherung” van de eerste; hoe hij dit kan meenen, kan ik niet verklaren.

Dat de cijfers in verschillende proeven gevonden niet precies gelijk zijn, is geen bezwaar, zoolang dan maar de onderlinge verhouding dezelfde blijft. In bovenstaand geval is dit echter in het geheel niet zoo: de cijfers bij *Pseudolarix* gevonden spreken hiervoor wel ten duidelijkste.

ZIEGENSPECK toont zeer duidelijk aan, dat er verschillende verwantschappen binnen de Coniferen serologisch zijn aan te wijzen; hij gaat echter mijnsinziens te ver, wanneer hij de geslachten wil differentieeren en op de zeer kleine verschillen een stamboom opstelt. In de eerste plaats zijn de verschillen te klein en verder zijn de verschillen niet constant; zijn uitstekende morphologische kennis is vermoedelijk niet vreemd aan het opstellen van den stamboom.

## V. DE RESULTATEN.

Om de resultaten van de verschillende Koningsberger onderzoekers na te gaan, heb ik in de eerste plaats zooveel mogelijk gestreefd naar nauwkeurig opvolgen van de methode. Dit is natuurlijk een van de eerste eischen, wil men de onderzoekingen van anderen beoordeelen. De keuze van de planten is echter door mij vrij willekeurig geschied, daar het er niets toe doet, of men met de eene of met de andere plant experimenteert. Ik heb dus bij voorkeur die planten genomen, waarvan ik de meeste zaden had, en waarvan bij onderzoek bleek, dat zij het gemakkelijkste te hanteeren waren. Zooals reeds in het vorige hoofdstuk gezegd is, heb ik vaak een plant, waarvan het zaad-extract moeilijk filtreerde, of waarmede geen immuniteit te verkrijgen was, niet gebruikt en een andere er voor in de plaats genomen. Daar het er slechts om te doen is, verschillende plantenfamilies van elkaar te onderscheiden, maakt het geen onderscheid, of men de eene of de andere plant van dezelfde familie neemt; twee planten, behorende tot dezelfde familie moeten dus ook dezelfde reactie geven.

Het gaat er dus om, plantenfamilies te onderscheiden en daarom ben ik in de eerste plaats uitgegaan van enkele groote families en heb ik daarvan meer (meest 3) soorten genomen, om deze te vergelijken. Hiervoor nam ik de Leguminosen, Rosaceae, Umbelliferae en enkele andere, kleinere families. Met deze planten immuniseerde ik konijnen en met de verkregen immunisera reageerde ik met een massa andere, deels verwant,

deels in het geheel niet verwant met de planten, waarmee geimmuniseerd was.

De resultaten volgen hierachter; In de tabellen beteekent: 1 troebeling, 2 licht neerslag, 3 middelmatig neerslag, 4 dik neerslag. De schatting van deze cijfers is natuurlijk eenigszins subjectief, maar er is altijd blind gewerkt, d.w.z. ik wist nooit met welke planten ik reageerde, zoodat niets door een vooropgestelde verwachting beïnvloed kon worden.

In de horizontale richting staan de tijden, in de verticale de verdunningen, terwijl de laatste horizontale rij de controle is.

Dan werden bij verschillende planten de proeven enkele dagen na elkaar herhaald; de resultaten zijn dan steeds achter elkaar weergegeven.

#### *a. Proeven met boonen*

De eerste onderzoeken, door mij gedaan, geschieden met boonen. Konijnen werden geimmuniseerd met de zaden van 12 verschillende planten. Hierbij werden zorgvuldig de boonen van één plant bij elkaar gehouden. De 12 planten waren van hetzelfde ras en afkomstig uit de rassentuin van Prof. MAYER GMELIN.

Elk konijn werd dus geimmuniseerd met boonen van één bepaalde plant; door daarna te reageeren met alle 12 boonen-extracten, verkreeg ik een indruk van de constantheid van de reactie.

Van de 12 konijnen waarmee ik de proef begon, hield ik er slechts vijf over. Deze waren ingespoten met extracten van boonenmeel, dat met alcohol en aether voorbehandeld was. De anderen gingen dood, of onder verlamningsverschijnselen of aan anaphylaxie.

Verder werd alleen de precipitatiereactie toegepast; de uitkomsten zijn op de hieronderstaande tabel weergegeven. De cijfers geven de verdunning van het extract aan, waarin de



reactie nog duidelijk was; de verdunningen waren: 1 : 400, 1 : 800, 1 : 1600, 1 : 3200 en 1 : 6400.

De cijfers in de laatste kolom geven het volume in cc. van het neerslag aan, dat ontstaat na een menging van 10 cc. Esbachs-reagens en 5 cc. extract, afgelezen na 24 uur.

#### BOONENREACTIES

Serum no.		1	2	3	4	5	
Extract no.	1.	5	5	4	5	4	5
	2.	4	4	4	5	4	5
	3.	4	4	4	5	4	5
	4.	5	5	5	4	5	4
	5.	—	—	—	—	—	9
	6.	2	3	3	3	2	2
	7.	5	5	5	5	5	4
	8.	4	4	4	5	4	3
	9.	3	4	4	4	4	3
	10.	4	4	4	4	5	4
	11.	—	—	—	(1)	—	8
	12.	5	4	4	5	4	7

Uit de tabellen blijkt, dat over het algemeen de reacties vrij constant zijn, behalve het extract 6, dat lagere cijfers geeft dan de overige; in twee gevallen (5 en 11) werd in het geheel geen neerslag verkregen, wat waarschijnlijk aan een technische fout is toe te schrijven.

Voor het minder reageeren van het extract 6 kan ik geen verklaring vinden.

#### *b. De Leguminosen immuunsera*

Geimmuniseerd werd met *Pisum sativum*, *Galega officinalis*, en *Cytisus scoparius*. Alle drie gaven een goed immuunserum na 6 injecties: *Pisum* en *Cytisus* hadden een titer van

1 : 6400, Galega van 1 : 12800. Dit laatste werd verdund, zoodat hiervan de titer ook 1 : 6400 werd. De dieren hielden zich onder de immunisatie uitstekend: die met Phaseolus ging echter te gronde, vermoedelijk omdat het extract niet met alcohol was behandeld.

De reacties gaven over het algemeen hetzelfde beeld, al zijn er enkele verschilpunten aan te geven. Dan gaven extracten, bij wier bereiding geen alcohol gebruikt werd, steeds een iets sterkere reactie dan die, waarbij dit wel het geval was; ook blijkt heel duidelijk, dat deze alkoholextractie noodzakelijk is, daar in de meeste gevallen daardoor de normaal troebeling verdwijnt (bij Lathyrus en Phaseolus bleef echter alles troebel).

Negatief waren de reacties met: Lythrum Salicaria, Moricandria hesperifolia, Lepidium sativum, Geranium pratense, Galium aparine, Rhamnus frangula, Chenopodium foliosum, Iris versicolor, Dianthus plumarius, Agrostemma Githago, Allium Porrum.

Positief met: Pisum sativum, Galega officinalis, Cytisus scoparius, Oenothera Lamarckiana, Cuminum cyminum, Sorbus americana, Malus floribunda, Prunus cerasus, Deutzia scabra, Hamamelis japonica en Mahonia Aquifolium.

Verschillen met andere auteurs zijn de volgende: Bij KOHZ (1923) reageeren Oenothera en Cuminum niet met de Leguminosae, bij NAY (1927) wel met Oenothera. Cuminum reageert bij mij echter zonder twijfel, Myrrhis daarentegen alleen in het extract, dat niet met alcohol behandeld is; het eiwitgehalte van Myrrhis was zoo laag, dat waarschijnlijk de alcohol alle eiwit onwerkzaam gemaakt heeft. Een serie proeven met extracten, die niet met alcohol waren behandeld, blijkt dus zeer nuttig te zijn.

Uit de tabellen met de proeven, die enkele dagen na elkaar genomen zijn, blijken wel eenige verschillen; over het algemeen zijn de neerslagen den tweeden dag sterker. De onderlinge verhouding is echter gelijk; de derde dag is ongeveer gelijk aan

de tweede. De extracten van groene deelen gaven veel mindere reacties: *Oenothera Lamarckiana* reageerde vrijwel in het geheel niet, evenals *Sorbus americana*; het eiwitgehalte was dan ook zeer laag.

Uit deze serie blijkt dus duidelijk, dat één karakteristieke getallenserie voor een bepaalde reactie niet is aan te geven.

NAY (1927) reageerde met 3 verschillende immuunsera van *Pisum sativum*; hij verkreeg de eigenaardige uitkomst, dat hij met dezelfde planten geheel verschillende reacties kreeg; vooral de Hamamelidaceae en Saxifragaceae reageerden nu eens positief dan weer negatief. Bij mij waren de reacties van de Saxifragaceae steeds duidelijk positief, niet alleen met *Deutzia* echter ook met *Ribes*.

### *c. De Rosaceae immuunsera*

Drie planten werden gebruikt om immuunsera te verkrijgen: *Crataegus pectinata*, *Cotoneaster moupinense* en *Prunus cerasus*; van de eerste twee werden twee immuunsera gemaakt. *Crataegus* 1 leverde na 8 injecties een immuunserum met den titer 1 : 12800, *Crataegus* 2 na 9 injecties 1 : 6400. *Cotoneaster* 1 vormde een immuunserum met den titer 1 : 6400 na 10 injecties, het tweede serum had dien titer reeds na 8 inspuitingen. *Prunus* leverde een serum op met den titer 1 : 6400 na 6 injecties; van deze had ik waarschijnlijk nog wel een hooger titer kunnen verkrijgen, echter had ik niet genoeg materiaal om de inspuitingen voort te zetten.

Getracht heb ik nog een immuunserum tegen *Rosa canina* te verkrijgen, echter is mij dat niet gelukt: na 14 injecties was de titer nog slechts 1 : 400. Evenals bij KOHZ (1923) kreeg het dier hevige krampaanvallen; een tweede konijn deed precies eender, waaruit blijkt, dat dit optreden waarschijnlijk niet ligt aan de individualiteit van het dier.

Negatief reageerden: *Moricandria hesperifolia*, *Atriplex hortensis*, *Euphorbia Lathyris*, *Malva verticillata*, *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*, *Agrostemma Githago*, *Allium Porrum*, *Iris versicolor*, *Chenopodium foliosum*.

Positief waren de reacties met: *Sorbus americana*, *Crataegus pectinata*, *Cotoneaster moupinense*, *Prunus cerasus*, *Galega officinalis*, *Cytisus scoparius*, *Pisum sativum*, *Deutzia scabra*, *Lythrum salicaria*, *Delphinium hybridum*, *Eleagnus edulis*, *Cornus mas*.

Troeelingen in de reeks, die niet met alcohol voorbehandeld waren kwamen voor bij: *Crataegus pectinata*, *Cotoneaster moupinense*, *Galega officinalis*, *Pisum sativum*, *Deutzia scabra*, *Cornus mas*. Bij de laatste verdween deze onspecifieke troebeling niet door de alcohol behandeling: de reactie verliep ook positief in de controle; deze reactie is dus als foutief te beschouwen.

Het tweede serum gaf ongeveer dezelfde resultaten: *Sorbus americana*, *Cotoneaster moupinense*, *Prunus cerasus*, *Pisum sativum*, *Deutzia scabra* en *Eleagnus edulis* reageerden positief; *Cornus mas* negatief maar positief in het extract dat niet met alcohol voorbehandeld was; negatief verliepen de reacties met *Lepidium sativum*, *Agrostemma Githago*, *Lythrum salicaria* en *Delphinium hybridum*.

Wat deze laatste twee betreft, zijn de reacties van het eerste en het tweede serum met elkaar in strijd; echter waren deze reacties bij het eerste serum reeds zeer gering.

Reacties met extracten, bereid van groene deelen, waren weer zeer veel zwakker dan de andere. *Sorbus americana*, *Prunus cerasus* en *Pisum sativum* reageerden slechts positief (en zeer gering); *Cytisus scoparius*, en *Deutzia scabra* waren negatief.

#### *d. De Umbellifloren immuunsera*

Van deze reeks werden twee families genomen nl. Umbelliferen en Cornaceen; het immuunserum van *Petroselinum sativum* bereikte na 7 injecties een titer van 1 : 6400, dat van *Myrrhis odorata* een van 1 : 3200 en dat van *Cornus mas* een van 1 : 3200. Dat van *Petroselinum* werd daarop verdund, waardoor het ook een titer van 1 : 3200 verkreeg.

Bij de immunisatie deden zich geen bijzondere voorvallen voor.

Van de Umbelliferen immuunsera waren de reacties positief met *Petroselinum sativum*, *Myrrhis odorata*, *Cytisus scoparius*, *Galega officinalis*, *Hedera Helix*. Negatief met *Cornus mas* en *sanguinea*, *Lythrum salicaria*, *Pisum sativum*, *Sedum stoloniferum*, *Sorbus americana*, *Prunus cerasus*, *Staphylea colchica*, *Crataegus pectinata*, *Cotoneaster moupinense*, *Malus floribunda*, *Rosa canina*.

In tegenspraak met elkaar zijn dus de reacties van de Leguminosen, daar *Cytisus* en *Galega* positief en *Pisum* negatief reageert.

Van de Cornaceae uit reageerden positief: *Cornus mas* en *sanguinea*; met alle andere bovengenoemde, waarmede ook met de Umbelliferae gereageerd werd, waren de reacties negatief.

NAY (1927) kreeg op verschillende punten andere resultaten: zoo reageerde bij hem *Foeniculum* met de Cornaceae en niet met *Pisum*; hij kreeg echter geheel eigenaardige gegevens, daar wanneer hij met *Foeniculum* antigeen reageerde met verschillende sera, de reactie tot de Cornaceae negatief was.

#### *e. Het Hamamelidaceae immuunserum.*

*Hamamelis japonica* leverde na 8 injecties een immuunserum met den titer van 1 : 6400. Positief waren de reacties

met: *Pisum sativum*, *Galega officinalis*, *Crataegus pectinata*, *Malus floribunda*, *Lythrum salicaria*, *Oenothera Lamarckiana*, *Hamamelis japonica*, *Hedera Helix*, *Deutzia scabra* en onzeker met *Petroselinum sativum*. Met *Sedum stoloniferum* was de reactie alleen positief in de reeks, die niet met alcohol voorbehandeld was; dit was ook het geval bij *Oenothera Lamarckiana*.

Negatieve reacties met: *Moricandria hesperifolia*, *Atriplex hortensis*, *Euphorbia Lathyris*, *Lepidium sativum*, *Cuminum cyminum*, *Myrrhis odorata*, *Delphinium hybridum* en *Cornus sanguinea*.

KOHZ en NAY hebben zeer uiteenlopende resultaten gevonden; NAY maakte twee verschillende immuunsera van *Hamamelis* en de resultaten van deze twee waren zeer uiteenlopend: het eerste gaf bijna geen reacties (alleen met *Ribes*, *Hedera*, *Hippuris*, *Lythrum* en *Hamamelis*), het tweede gaf veel te veel, zelfs met *Aesculus* en *Sinapis*.

De bovenstaande resultaten stemmen het meest overeen met KOHZ: met Umbelliferen kreeg ik alleen reactie met *Petroselinum* en niet met *Myrrhis*. Bij KOHZ was de reactie tot de Umbelliferen positief (*Heracleum*).

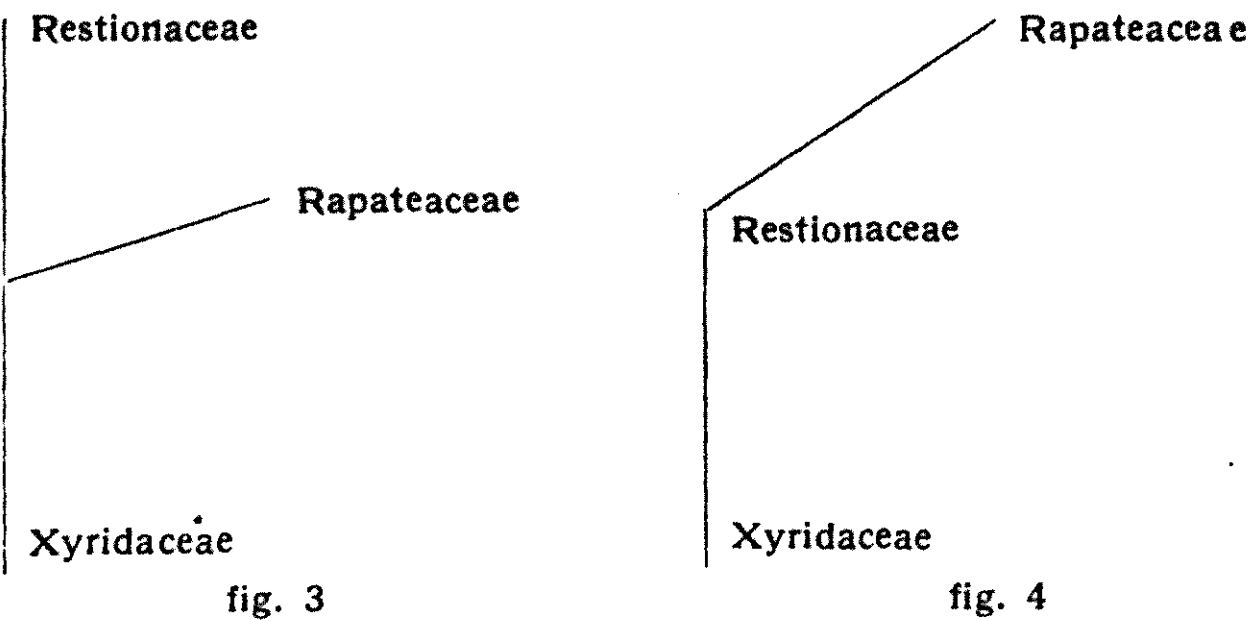
## VI. HET OPSTELLEN VAN DEN STAMBOOM.

Uit het vorige is duidelijk gebleken, dat de serologie belangrijke aanwijzingen kan geven omtrent de verwantschappen van plantenfamilies. Uit de resultaten stellen MEZ en ZIEGENSPECK nu een stamboom samen en ik wil hier nu nagaan, in hoeverre dat mogelijk is. Voor dit doel haal ik aan de behandeling van de Monocotylen van ANKERMANN (1927).

Deze begint den stamboom op te stellen:

„6 ELEGIA .....	5	5	4	4 <sup>1)</sup>
4 XYRIS .....	5	5	3	3
4 RAPATEA .....	5	5	3	2

Fig. 3 und 4 zeigen uns die beiden ergebenden Möglichkeiten:



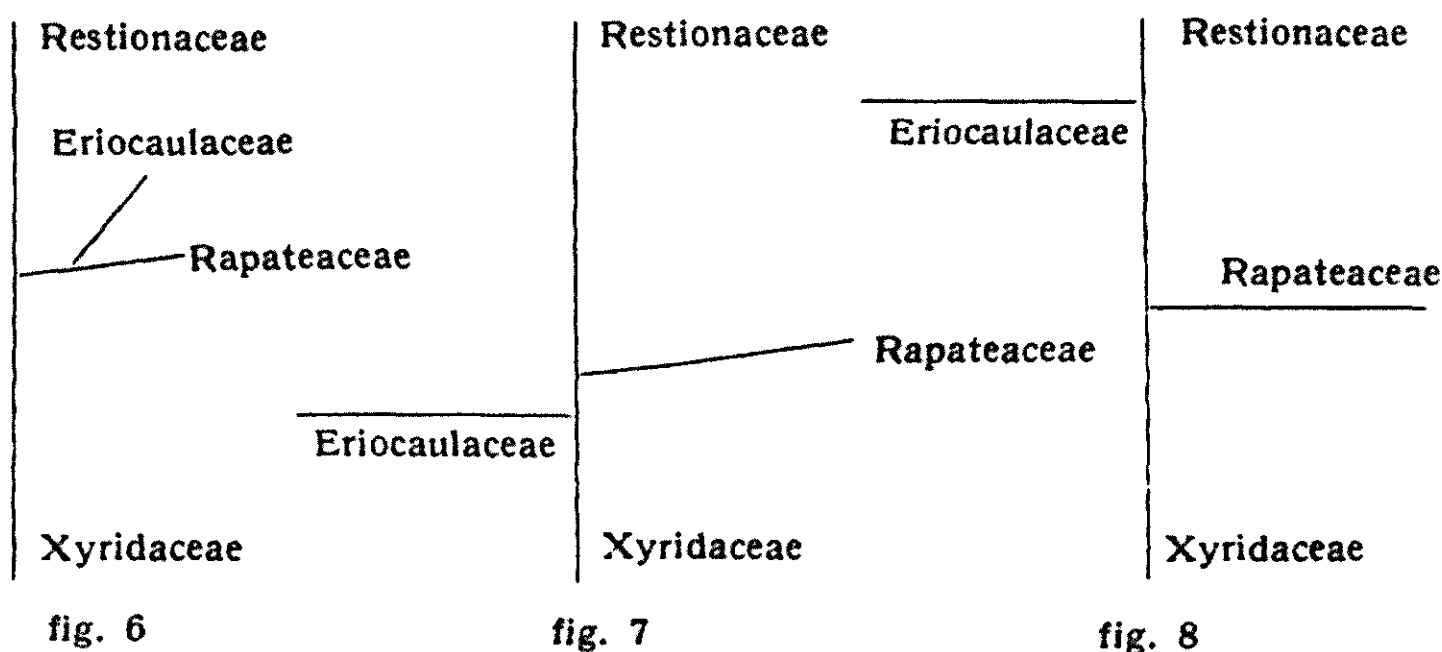
<sup>1)</sup> De getallen vóór den geslachtsnaam geven aan het aantal buisjes, waarin precipitatie reactie optreedt. De beteekenis van de achterste getallen, die de conglutinatie aangeven, is uiteengezet op p. 39.



Zur Kontrolle steht uns das Xyridaceen-Zentrum zur Verfügung:

5 Xyris .....	5	5	5	3
4 Rapatea .....	5	5	4	3
4 Elegia .....	5	5	3	3
4 Lachnocaulon.....	5	5	3	2

Danach ist Fig. 3 richtig und wir ergänzen dieses in den Figuren 6—8 mit den Eriocaulaceen:



Zur Kontrolle steht uns das Eriocaulaceen-Zentrum zur Verfügung:

6 Lachnocaulon.....	5	5	5	4
6 Xyris .....	5	5	4	3
3 Rapatea .....	5	5	4	2
2 Elegia .....	5	4	3	2
– Billbergia .....	5	5	4	2

Wir entscheiden uns für Fig. 7."

Op deze wijze stelt hij zijn geheelen Monocotylenstamboom op; dit opstellen geschiedt nu volgens de volgende principes: Voor elke plantenfamilie is de cijferreeks, die de uitkomst van de reacties weergeeft, constant. Verder: de verschillen in deze reacties zijn evenredig met den phylogenetischen afstand.

Dat hij het eerste als bewezen aanneemt, blijkt uit het feit,

dat een stamboom wordt samengesteld op grond van kleine verschillen als hierboven aangegeven is; dat dit een foutieve rede-neering is, volgt al dadelijk uit een vluchtige blik op de cijfers van het Eriocaulaceae-centrum: daar is de uitkomst van Xyris: 5 5 4 3 met een precipitatiereactie 6 en een uitkomst van Rapatea met 5 5 4 2, terwijl in de precipitatie slechts het derde buisje troebel wordt. De conglutinatie en de precipitatie dekken elkaar in dit geval in het geheel niet. Toch wordt aan den hand van de conglutinatiereactie besloten, dat Rapatea en Xyris ongeveer evenver van Lachnocaulon verwijderd zijn. Zoo zijn er in andere publicaties vele gevallen te vinden, die niet geheel uitkomen.

Verder komt het mij gewaagd voor, aan te nemen, dat het verschil in de seroreacties evenredig is met het chemische verschil in de specifieke eiwitten, daar wij toch uit de onderzoekingen van EHRLICH weten, dat de toxonen en toxoiden even goed zich met het antitoxine blijvend verbinden als de toxinen, dat dus in het antigeen een belangrijke scheikundige verandering plaats kan hebben (in dit geval het verloren gaan van de toxophore groep) zonder dat de specifieke reactie verloren gaat.

## VII. CONCLUSIE.

Uit het voorgaande kunnen we besluiten, dat de serodiagnostische methode, zooals deze is uitgewerkt door MEZ, geschikt is om verwantschappen van plantengroepen aan te toonen. Zij kan tevens een aanwijzing geven bij het opstellen van een stamboom; hierbij blijft echter morphologie hoofdzaak: de serologie kan dus een hulpmiddel zijn om morphologische onduidelijkheden op te helderen.

Voor zoover het groote plantengroepen betreft, kan men, als men tenminste een reeks experimenten doet, met vrij groote zekerheid met de serologische methode vinden, tusschen welke groepen nauwere verwantschappen bestaan. Bij de indeeling in geslachten en soorten moet men daarentegen zeer voorzichtig zijn, daar hier vooral vaak niet-specifieke reacties optreden, terwijl bij de specifieke reacties, wanneer men met sera van verschillende konijnen, die tegen ééNZelfde plantenextract geïmmuniseerd zijn, reageert, niet altijd dezelfde volgorde wordt verkregen, indien men deze naar den graad van verdunning, waarbij in hun extracten nog een neerslag optreedt, rangschikt.

Dit is natuurlijk voor het opstellen van een stamboom noodzakelijk, daar MEZ en ZIEGENSPECK den afstand, waarop twee plantengroepen staan, evenredig stellen aan de concentratie, waarbij zij reageeren. Dit laatste standpunt kan ik onmogelijk deelen, daar mij zeer duidelijk gebleken is, dat de reacties niet

altijd precies gelijk verlopen; indien men dan stamboomen opstelt op verschillende experimenten, dan verkrijgt men natuurlijk verschillende stamboomen; dit zal toch ook wel niet de bedoeling van MEZ geweest zijn.

De oppositie, die GILG en SCHÜRHOFF voeren tegen MEZ en ZIEGENSPECK, is te sterk doorgevoerd; mijns inziens laten hun proeven vrijwel hetzelfde beeld zien: zij toch krijgen zeer vele goede resultaten naast vele slechte. De oorzaak van deze slechte resultaten gaan ze niet na: hier zouden toch best onjuistheden in het onderzoek kunnen schuilen (ik heb reeds gewezen op de capillairmethode en het nalaten van de alkoholextractie). De vele goede uitkomsten bewijzen ook, dat de serologie in staat is de morphologie behulpzaam te zijn. Hun conclusies lijken mij niet geheel onbevooroordeeld.

Ons oordeel over de bruikbaarheid van de serologische methode in de botanische systematiek komt volkomen overeen met de opvatting der klinici over de waarde van de seroreacties voor de diagnose van ziekten; zij geeft zeer belangrijke aanwijzingen, maar heeft geen absoluut gezag.

Onze onderzoekingen hebben uitgewezen, dat de opstelling van een stamboom, alleen op serologische resultaten onmogelijk is. Hiermede valt de serologische opzet van den stamboom van MEZ en ZIEGENSPECK. Niet echter de stamboom zelf; deze geeft ons vele nieuwe combinaties, die den systematici tot hernieuwd onderzoek aan zullen sporen; daarom blijft het een groote verdienste van hen, dat zij de serologie in de botanische systematiek geïntroduceerd hebben al heeft dan ook de groote opzet gefaald.

## VIII. TABELLEN.

De cijfers geven de intensiteit van de reactie aan:

- 4 = sterk;
- 3 = matig;
- 2 = duidelijke troebeling;
- 1 = lichte troebeling;
- = geen reactie.

1. *Conglutinatie* (p. 56). De afleestijden staan in de horizontale, de concentraties in de vertikale rijen. De 1e vertikale kolom cijfers geeft het aantal cc. immuunserum, de 1e kolom horizontale de afleestijden aan.  
Elke reactie verliep in twee series, die naast elkaar geplaatst zijn: In de eerste kolom staan de uitkomsten, die verkregen zijn met extracten die *weí*, in de tweede, die *niet* met alcohol voorbehandeld zijn.
2. *Precipitatie* (p. 67). In de horizontale rijen zijn de verdunningen gerangschikt, terwijl de vertikale de uitkomst bij de verschillende planten aangeeft.
3. *Kunstserum reacties* (p. 68). Hier is alleen aangegeven of 2 planten positief of negatief reageeren. Dit is mogelijk, daar een specifieke reactie nooit is opgetreden. Er werd alleen geconglutineerd.

1. CONGLUTINATIEREACTIES

	cm <sup>3</sup>	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'
1. IMMUUNSER A VAR. LEGUMINOS EN.																										
Resultaat van den eersten dag.																										
		Pisum sativum					Galega officinalis					Cytisus scoparius														
Pisum sativum	0.1	1	2	2	2	3	1	2	3	4	4	1	1	2	2	3	1	1	2	2	4	1	2	2	3	4
	0.05	-	1	1	2	2	-	1	2	3	4	-	1	1	2	2	-	1	1	3	4	1	1	2	2	4
	0.025	-	-	1	1	1	-	-	1	3	4	-	-	-	2	2	-	-	1	3	4	-	1	2	2	3
	0.015	-	-	-	1	1	-	-	1	3	4	-	-	-	1	1	-	-	-	3	4	-	-	1	1	2
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	-	-	-	-
Galega officinalis	0.1	1	1	2	3	4	1	1	2	4	4	1	1	2	3	4	1	1	2	3	4	1	1	2	2	3
	0.05	-	1	2	2	3	-	1	2	3	4	-	-	2	3	4	-	1	2	3	4	-	1	2	2	2
	0.025	-	-	1	1	2	-	-	1	3	4	-	-	1	3	4	-	-	1	3	4	-	-	1	2	2
	0.015	-	-	1	1	1	-	-	1	2	4	-	-	1	2	3	-	-	-	3	4	-	-	-	1	1
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	-	-	-	-
Cytisus scoparius	0.1	1	1	2	3	4	1	1	2	3	4	1	1	2	3	3	1	1	2	3	3	1	1	2	2	2
	0.05	-	1	2	2	3	-	1	2	2	3	-	1	1	2	2	-	1	1	2	2	-	1	1	1	2
	0.025	-	-	2	2	3	-	-	1	2	2	-	-	1	1	2	-	-	1	1	2	-	-	1	2	3
	0.015	-	-	1	1	2	-	-	1	2	2	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oenothera Lamarckiana	0.1	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1
	0.05	-	-	-	-	1	-	-	1	1	1	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	-	-	-	-	1
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cuminum cymi- num	0.1	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1
	0.05	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbus americana	0.1	-	-	1	2	3	-	-	1	1	2	-	-	1	3	3	-	-	1	3	3	-	-	1	1	1
	0.05	-	-	-	2	2	-	-	1	2	2	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3	-	-	1	1	1
	0.025	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	-	-	-	1	3	-	-	-	-	1
	0.015	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malus floribunda	0.1	-	-	1	2	3	-	1	1	2	3	-	1	1	1	2	-	1	1	1	2	-	1	1	1	1
	0.05	-	-	1	2	3	-	1	1	3	2	-	-	1	1	2	-	-	1	1	2	-	1	1	1	2
	0.025	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1
	0.015	-	-	-	-	1	-	-	1	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	cm <sup>3</sup>	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'
		Pisum sativum		Galega officinalis		Cytisus scoparius	
Prunus cerasus	0.1	- 1 1 2 3	- 1 1 2 3	- 1 1 2 3	- 1 1 3 4	- 1 1 1 2	- 1 1 2 3
	0.05	- 1 1 1 2	- 1 1 1 2	- - 1 1 2	- 1 1 1 3	- - 1 1 1	- - 1 2 2
	0.025	- - 1 1 1	- - - 1 1	- - - 1 1	- 1 1 1 2	- - 1 1 1	- - 1 1 1
	0.015	- - - 1 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - 1 1	- - - - 1	- - - - 1
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - -
Deutzia scabra	0.1	- - 1 1 2	- 1 2 2 3	- 1 2 2 2	- 1 1 2 4	- - 1 2 3	- - 1 2 4
	0.05	- - 1 1 2	- - 1 3 4	- 1 1 1 1	- - 1 1 4	- - 1 1 2	- - 1 3 4
	0.025	- - 1 1 1	- - - 1 4	- - 1 1 1	- - - 3 4	- - - 1 1	- - - 3 4
	0.015	- - - - 1	- - - - 4	- - - - (1)	- - - - 4	- - 1 1 1	- - - - 4
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4
Hamamelis japonica	0.1	- - - 1 2	- - - 1 1	- - - 1 2	- - - 1 2	- - - 1 2	- - - - 2
	0.05	- - - 1 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1
	0.025	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - -	- - - - 1
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Mahonia Aquifolium	0.1	- - - - 1	- - - 1 1	- - - 1 1	- - - 1 1	- - - - -	- - - - 1
	0.05	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - 1 1	- - - - -	- - - - -
	0.025	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -

*Resultaat van den tweeden dag.*

Pisum sativum	0.1	1 2 2 3 4	1 2 2 4 4	1 1 2 3 3	1 1 2 2 4	1 2 2 4 4	1 2 2 4 4
	0.05	- 1 2 3 3	1 2 2 2 4	- 1 1 2 3	- 1 1 2 4	- 1 1 2 3	- 1 2 2 4
	0.025	- - 1 2 3	- 1 1 2 4	- - 1 1 3	- - 1 2 4	- - 1 1 2	- - 1 3 4
	0.015	- - - 1 2	- - 1 1 4	- - - 1 2	- - - 1 4	- - - - 1	- - - 3 4
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - 3 4
Galega officinalis	0.1	1 2 3 4 4	1 2 3 4 4	1 1 2 3 4	1 1 2 3 4	1 1 2 3 4	1 1 2 3 4
	0.05	- 1 2 2 3	- 1 2 3 4	- - 1 2 3	- 1 2 2 4	- 1 1 2 3	- - 1 3 4
	0.025	- - 1 1 2	- - 1 3 4	- - - 1 2	- - 1 2 4	- - - 1 2	- - - 2 4
	0.015	- - - 1 1	- - - 1 4	- - - - 1	- - - 1 4	- - - - 1	- - - 1 4
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 3	- - - - -	- - - - 2
Oenothera Lamarckiana	0.1	- - 1 1 2		- - - 1 2		- - - 1 2	
	0.05	- - - 1 1		- - - - 1		- - - - 1	
	0.025	- - - - 1		- - - - -		- - - - -	
	0.015	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	



	cm <sup>3</sup>	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'
		Pisum sativum		Galega officinalis		Cytisus scoparius	
Sorbus americana	0.1	- 1 2 3 4		- - 1 2 3		- - 1 1 1	
	0.05	- - 1 2 2		- - - 1 1		- - - 1 1	
	0.025	- - - 1 2		- - - 1 1		- - - - 1	
	0.015	- - - - 1		- - - - 1		- - - - 1	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
Prunus cerasus	0.1	- 1 2 3 4	- 1 2 3 4	- 1 2 2 3	- 1 1 3 4	- 1 1 2 3	- 1 1 2 4
	0.05	- - 1 2 3	- - 1 2 4	- - 1 1 1	- - 1 1 3	- - 1 1 3	- - 1 2 4
	0.025	- - - 1 1	- - - 1 2	- - - - 1	- - - 1 2	- - - 1 1	- - - 1 3
	0.015	- - - - 1	- - - - 1	- - - - -	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 2
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - (1)
Mahonia Aquifolium	0.1	- - - - 1		- - 1 1 2		- - - - 1	
	0.05	- - - - 1		- - - 1 2		- - - - -	
	0.025	- - - - -		- - - - 1		- - - - -	
	0.015	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	

Resultaat van den derden dag.

Galega officinalis	0.1	1 1 2 3 4	1 1 2 3 4	1 1 2 3 4	- 1 2 3 4	1 1 2 3 3	1 1 2 3 4
	0.05	- - 1 2 3	- 1 2 3 4	- 1 1 2 3	- 1 3 3 4	- - 1 2 3	- - 1 3 4
	0.025	- - 1 2 2	- - 1 3 4	- 1 1 1 2	- 1 1 1 3	- - - 1 2	- - - 1 4
	0.015	- - - 1 1	- - - 1 4	- - - - 1	- - - 1 3	- - - - 1	- - - - 4
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 2	- - - - -	- - - - 4
Oenothera Lamarckiana	0.1	- - - 1 1		- - - 1 1		- - 1 1 1	
	0.05	- - - - 1		- - - - 1		- - - - 1	
	0.025	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.015	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
Sorbus americana	0.1	- 1 2 3 4		- - 1 2 3		- - 1 2 2	
	0.05	- - 1 1 2		- - - 1 2		- - - 1 1	
	0.025	- - - 1 1		- - - - 1		- - - - -	
	0.015	- - - - 1		- - - - -		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
Prunus cerasus	0.1	1 1 1 2 4		- 1 1 2 3		- 1 1 2 3	
	0.05	- 1 1 1 2		- - 1 1 2		- - - 1 2	
	0.025	- - 1 1 1		- - - 1 1		- - - - 1	
	0.015	- - - 1 1		- - - - -		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	

	<i>cm</i> <sup>3</sup>	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'
--	------------------------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------

Resultaat met extracten van groene deelen.

		Pisum sativum					Galega officinalis					Cytisus scoparius				
Pisum sativum	0.1	-	-	1	2	3	-	-	-	1	1	-	-	1	2	3
	0.05	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galega officinalis	0.1	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3	-	-	-	1	1
	0.05	-	-	-	1	2	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1
	0.025	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oenothera Lamarckiana	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbus americana	0.1	-	-	-	1	1	-	-	-	1	2	-	-	-	-	1
	0.05	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prunus cerasus	0.1	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3	-	-	-	1	2
	0.05	-	-	-	1	2	-	-	-	1	2	-	-	-	-	1
	0.025	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2. IMMUUNSERA VAN ROSACEAE.

Eerste serum.

		Crataegus pectinata				Cotoneaster moupinense				Prunus cerasus						
Sorbus americana	0.1	-	1	2	3	3	-	1	2	3	4	-	1	2	3	4
	0.05	-	1	1	2	3	-	1	2	3	3	-	1	1	2	3
	0.025	-	-	1	2	2	-	1	1	2	2	-	1	1	1	2
	0.015	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	<i>cm</i> <sup>3</sup>	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'
		Crataegus pectinata		Cotoneaster moupinense		Prunus cerasus	
Crataegus pecti- nata	0.1	1 1 2 3 4	1 1 2 3 4	1 2 2 2 3	1 1 2 3 4	- 1 2 3 4	- 1 2 2 3
	0.05	- 1 1 2 3	- - 1 2 4	- 1 2 3 4	- 1 1 1 4	- - 1 2 3	- 1 2 3 4
	0.025	- 1 1 1 2	- 1 2 3 4	- - 1 2 3	- - 1 2 3	- - 1 2 3	- 1 1 2 3
	0.015	- - 1 1 2	- - 1 3 4	- - 1 1 1	- - 1 1 4	- - - 1 1	- - 1 1 4
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - 1 3 4	- - - - -	- - - - 4
Cotoneaster mou- pinense	0.1	- 1 2 3 4	- 1 3 3 4	- 2 2 3 4	- 2 3 3 4	- 1 1 2 3	- 1 2 3 3
	0.05	- 1 2 2 3	- - 1 2 3	- 1 2 3 4	- 1 2 2 3	- - 1 1 2	- - 1 1 4
	0.025	- - 1 2 3	- - 1 1 4	- - 1 1 2	- - - 3 4	- - - - -	- - - - 4
	0.015	- - 1 1 1	- - 1 3 4	- - - 1 2	- - - 3 4	- - - - -	- - - - 4
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4
Prunus cerasus	0.1	- - 1 2 3	- - 1 2 4	- - 1 3 4	- - 1 2 4	- 1 2 3 4	- 1 1 2 4
	0.05	- - - 1 2	- - - 1 3	- - - 2 3	- - - 2 3	- - 1 2 3	- - - 2 3
	0.025	- - - 1 1	- - - 1 1	- - - 2 3	- - - 2 3	- - - 1 2	- - - 1 2
	0.015	- - - - 1	- - - - 1	- - - 1 1	- - - 1 1	- - - - 1	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Galega officinalis	0.1	- - 1 2 3	- 1 2 2 3	- - 2 3 3	- 1 2 3 4	- 1 1 2 3	- 1 2 4 4
	0.05	- - 1 1 2	- 1 1 2 4	- - 1 2 3	- - 1 3 4	- - 1 2 3	- 1 1 3 4
	0.025	- - - 1 1	- - 1 2 4	- - 1 1 1	- - - 4 4	- - 1 2 2	- - 2 3 4
	0.015	- - - - 1	- - 1 3 4	- - - - 1	- - - 4 4	- - - 1 1	- - 1 2 4
	0.000	- - - - -	- - - 3 4	- - - - -	- - - 1 4	- - - - -	- - - 2 4
Cytisus scoparius	0.1	- - 1 1 2	- 1 2 3 4	- - 1 2 3	- - 1 3 4	- 1 2 3 4	- - 1 2 4
	0.05	- - 1 1 1	- - 1 2 2	- - 1 2 2	- - - 2 3	- - 1 2 3	- - 1 1 2
	0.025	- - - 1 1	- - - 1 2	- - - 1 3	- - - 1 2	- - - 1 1	- - - 1 1
	0.015	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1	- - - - 1
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Pisum sativum	0.1	- 1 2 2 3	- 1 2 3 4	- 1 1 2 2	- 1 1 3 3	- 1 2 3 4	- 1 2 2 3
	0.05	- - 1 2 2	- - 1 3 4	- - 1 2 2	- - 1 2 4	- - 2 3 3	- 1 2 3 4
	0.025	- - - 1 1	- - 1 3 4	- - 1 1 1	- - 1 1 4	- - 1 2 2	- - 1 1 4
	0.015	- - - - 1	- - - 2 4	- - - - 1	- - - - 4	- - - - 1	- - - - 4
	0.000	- - - - -	- - - 1 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4
Deutzia scabra	0.1	- - - 1 2	- - - 1 4	- - 1 2 3	- - 1 2 4	- - 1 2 2	- - - 1 4
	0.05	- - - 1 1	- - - - 4	- - - - 3	- - - - 4	- - - 1 1	- - - - 4
	0.025	- - - - 1	- - - - 5	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4
	0.015	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4

	<i>cm</i> <sup>3</sup>	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'
		Crataeges pectinata		Cotoneaster moupinense		Prunus cerasus	
Lythrum sali- caria	0.1	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - (1)
	0.05	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - 1
	0.025	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Delphinium hybridum	0.1	- - - - -	- - - 1 1	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - 1
	0.05	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.025	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Eleagnus edulis	0.1	- - - - -	- - - 1 1	- - - - -	- - - 1 1	- - - - 1	- - - 1 1
	0.05	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - -
	0.025	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Cornus mas	0.1	- - - - 4	- - 3 4 4	- - - - 4	- - - 3 4	- - - 3 4	- - - 3 4
	0.05	- - - - 4	- - 3 4 4	- - - - 4	- - - 3 4	- - - 3 4	- - - 3 4
	0.025	- - - - 4	- - 3 4 4	- - - - 4	- - - 3 4	- - - 3 4	- - - 3 4
	0.015	- - - - 4	- - 3 4 4	- - - - 4	- - - 3 4	- - - 3 4	- - - 3 4
	0.000	- - - - 4	- - - 4 4	- - - - 4	- - - 3 4	- - - 3 4	- - - 3 4

Tweede serum.

		Crataegus pectinata		Cotoneaster moupinense	
Sorbus americana	0.1	- 1 2 3 3		- 1 2 3 4	
	0.05	- - 1 2 3		- 1 2 2 3	
	0.025	- - - 1 2		- - - 2 2	
	0.015	- - - - 1		- - - - 1	
	0.000	- - - - -		- - - - -	
Cotoneaster moupinense	0.1	- 1 2 3 4		1 2 3 4 4	
	0.05	- 1 1 2 3		- 1 2 3 3	
	0.025	- - 1 1 2		- - 1 2 2	
	0.015	- - - - 1		- - - 1 1	
	0.000	- - - - -		- - - - -	
Prunus cerasus	0.1	- 1 2 3 4		- - - 1 2	
	0.05	- - 1 2 3		- - - - 1	
	0.025	- - - 1 2		- - - - -	
	0.015	- - - - 1		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -	

	<i>cm</i> <sup>3</sup>	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'
		Crataegus pectinata			Cononeaster moupinense		
Pisum sativum	0.1	- 1 2 3 4			- 1 2 3 3		
	0.05	- 1 1 2 3			- - 1 2 2		
	0.025	- - - 1 2			- - - - 1		
	0.015	- - - - 1			- - - - -		
	0.000	- - - - -			- - - - -		
Deutzia scabra	0.1	- - - 1 1			- - 1 2 3		
	0.05	- - - - 1			- - - 1 1		
	0.025	- - - - -			- - - - 1		
	0.015	- - - - -			- - - - -		
	0.000	- - - - -			- - - - -		
Eleagnus edulis	0.1	- - - - 1			- - - - -		
	0.05	- - - - -			- - - - -		
	0.025	- - - - -			- - - - -		
	0.015	- - - - -			- - - - -		
	0.000	- - - - -			- - - - -		
Cornus mas	0.1	- - - - -	- - 4 4 4		- - - - -	- - 4 4 4	
	0.05	- - - - -	- - 3 4 4		- - - - -	- - 4 4 4	
	0.025	- - - - -	- - - 4 4		- - - - -	- - 4 4 4	
	0.015	- - - - -	- - - 4 4		- - - - -	- - 4 4 4	
	0.000	- - - - -	- - - 4 4		- - - - -	- - 4 4 4	

Resultaten met extracten van groene deelen.

		Crataegus pectinata	Cotoneaster moupinense	Prunus cerasus
Sorbus americana	0.1	- - 1 2 3	- - - 1 3	- - 1 2 3
	0.05	- - - 1 2	- - - 1 1	- - - 1 2
	0.025	- - - - 1	- - - - -	- - - - 1
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Prunus cerasus	0.1	- - - - 1	- - - 1 2	- - - 1 2
	0.05	- - - - -	- - - - 1	- - - - 1
	0.025	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Pisum sativum	0.1	- - - 1 2	- - - - 1	- - - - 1
	0.05	- - - - 1	- - - - -	- - - - -
	0.025	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -

	<i>cm</i> <sup>3</sup>	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'
--	------------------------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	------

IMMUUNSERAVANUMBELLIFLOREN.

Resultaat van den eersten dag.

		Petroselinum sativum				Myrrhis odorata				Cornus mas			
Petroselinum sativum	0.1	- 1 2 2 3	- 1 2 3 4	- 1 2 2 2	- 1 2 3 3	- - - - -	- - - 3 4						
	0.05	- 1 1 2 2	- 1 1 2 3	- 1 2 2 2	- 1 2 2 3	- - - - -	- - - 3 4						
	0.025	- - 1 1 1	- - 1 2 3	- 1 1 1 1	- - 1 2 3	- - - - -	- - - 2 3						
	0.015	- - - - 1	- - - 1 2	- - - - 1	- - - 1 2	- - - - -	- - - 1 2						
	0.000	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - -	- - - - (1)	- - - - 1						
Myrrhis odorata	0.1	- 1 2 2 3	- 1 2 3 4	- 1 2 3 3	- 1 2 2 3	- - - - -	- - - 3 4						
	0.05	- - 1 2 3	- - 1 2 3	- - 1 2 2	- 1 2 2 3	- - - - -	- - - 2 3						
	0.025	- - - 1 2	- - 1 2 3	- - - 1 2	- - 1 1 4	- - - - -	- - - 2 4						
	0.015	- - - - -	- - - 1 2	- - - - 1	- - - 1 4	- - - - -	- - - 1 2						
	0.000	- - - - -	- - - - 1	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 1						
Cornus mas	0.1	- - - - -	- - 2 3 4	- - - - -	- - - 3 4	- - 1 2 3	- - 1 2 4						
	0.05	- - - - -	- - - 3 4	- - - - -	- - - 3 4	- - 1 2 2	- - 1 3 4						
	0.025	- - - - -	- - - 2 3	- - - - -	- - - 3 4	- - - 1 1	- - 1 2 3						
	0.015	- - - - -	- - - 2 3	- - - - -	- - - 3 4	- - - 1 1	- - - 2 3						
	0.000	- - - - -	- - - 2 3	- - - - -	- - - 2 3	- - - - -	- - - - 1						
Cornus sanguinea	0.1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- 1 2 2 3	- 1 2 3 4						
	0.05	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - 1 2 2	- 1 2 2 2						
	0.025	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - 1 2 2	- - 1 2 2						
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - 1	- - - 1 2						
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -						
Galega officinalis	0.1	- - 1 2 3	- - 1 2 4	- - - 1 2	- - - 1 4	- - - - -	- - - 4 4						
	0.05	- - - - 1	- - - 3 4	- - - - 1	- - - - 4	- - - - -	- - - 4 4						
	0.025	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - 4 4						
	0.015	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4						
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4						
Cytisus scoparius	0.1	- - 1 2 3	- - 1 2 4	- - - 1 3	- - - 1 3	- - - - -	- - - - -						
	0.05	- - - 1 2	- - - 1 3	- - - 1 2	- - - 2	- - - - -	- - - - -						
	0.025	- - - - 1	- - - - 2	- - - - 1	- - - - 1	- - - - -	- - - - -						
	0.015	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -						
	0.000	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -						
Deutzia scabra	0.1	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4						
	0.05	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4						
	0.025	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4						
	0.015	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4						
	0.000	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4	- - - - -	- - - - 4						

	<i>cm</i> <sup>3</sup>	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'
		Petroselinum sativum					Myrrhis odorata					Cornus mas														
Hedera Helix	0.1	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	1	1	2	-	-	1	1	2	-	-	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Resultaten van den tweeden dag.

		Petroselinum sativum					Myrrhis odorata					Cornus mas														
Petroselinum sativum	0.1	-	1	2	3	4	-	1	2	2	3	-	1	2	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4
	0.05	-	-	1	2	3	-	-	1	1	2	-	-	1	2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4
	0.025	-	-	-	2	3	-	-	1	2	3	-	-	-	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4
	0.015	-	-	-	1	2	-	-	-	1	2	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	4	
	0.000	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	4	
Cornus sanguinea	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	3	4	-	-	2	3	4
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	1	2	
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cytisus scoparius	0.1	-	-	-	1	3	-	-	1	2	3	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	-	-	1	-	-	-	1	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hedera Helix	0.1	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3	-	-	1	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	1	1	2	-	-	1	1	2	-	-	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Resultaten met extract van groene deelen.

		Petroselinum sativum					Myrrhis odorata					Cornus mas														
Petroselinum sativum	0.1	-	-	-	1	2	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



	cm <sup>3</sup>	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'	20' 40' 60' 90' 120'
		Petroselinum sativum		Myrrhis odorata		Cornus mas	
Pisum sativum	0.1	- - - - 1		- - - - -		- - - - -	
	0.05	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.025	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.015	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
Galega officinalis	0.1	- - - - 1		- - - - -		- - - - -	
	0.05	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.025	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.015	- - - - -		- - - - -		- - - - -	
	0.000	- - - - -		- - - - -		- - - - -	

4. IMMUUNSERUM VAN HAMAMELIS JAPONICA.

Pisum sativum	0.1	- - - 1 1	- - - - 4			
	0.05	- - - - 1	- - - - 4			
	0.025	- - - - -	- - - - 4			
	0.015	- - - - -	- - - - 4			
	0.000	- - - - -	- - - - 4			
Galega officinalis	0.1	- - - 1 2	- - - - 4			
	0.05	- - - - 1	- - - - 4			
	0.025	- - - - -	- - - - 4			
	0.015	- - - - -	- - - - 4			
	0.000	- - - - -	- - - - 4			
Crataegus pec- tinata	0.1	- - - 1 2	- - - 4 4			
	0.05	- - - 1 1	- - - 4 4			
	0.025	- - - - 1	- - - 4 4			
	0.015	- - - - 1	- - - 4 4			
	0.000	- - - - -	- - - 4 4			
Malus floribunda	0.1	- - - 1 2	- - 1 2 2			
	0.05	- - - - 1	- - - 1 1			
	0.025	- - - - -	- - - - 1			
	0.015	- - - - -	- - - - -			
	0.000	- - - - -	- - - - -			
Lythrum sali- caria	0.1	- - - - 1	- - - 1 2			
	0.05	- - - - -	- - - - 1			
	0.025	- - - - -	- - - - -			
	0.015	- - - - -	- - - - -			
	0.000	- - - - -	- - - - -			

	cm <sup>3</sup>	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'	20'	40'	60'	90'	120'
Oenothera	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1														
Lamarckiana	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1														
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-														
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-														
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-														
Hamamelis japo-	0.1	-	1	2	3	3	-	1	2	3	4															
nica	0.05	-	1	1	2	2	-	1	1	2	3															
	0.025	-	-	1	1	1	-	-	1	1	2															
	0.015	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1															
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
Sedum stolonif-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1															
ferum	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
Hedera Helix	0.1	-	-	-	1	1	-	-	-	1	2															
	0.05	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1															
	0.025	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1															
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
Deutzia scabra	0.1	-	-	1	2	2	-	-	-	3	4															
	0.05	-	-	1	1	1	-	-	-	1	4															
	0.025	-	-	-	-	1	-	-	-	-	5															
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4															
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4															
Petroselinum	0.1	-	-	-	-	(1)	-	-	-	-	1															
sativum	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1															
	0.025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															
	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-															

2. PRECIPITATIEREACTIES.

	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600
--	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------

1. LEGUMINOSENIMMUUNSERUM.

	Pisum sativum							Galega officinalis							Cytisus scoparius											
Pisum sativum	4	4	3	2	1	-	-	-	-	4	3	2	2	1	-	-	-	4	4	3	2	1	1	-	-	-
Galega officinalis	4	4	3	2	1	-	-	-	-	4	3	3	2	1	-	-	-	4	3	2	1	-	-	-	-	-
Cytisus scoparius	4	3	2	1	1	-	-	-	-	4	3	2	1	1	-	-	-	4	3	2	1	1	-	-	-	-
Oenothera Lam.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cuminum cyminum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbus americana	2	1	-	-	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Malus floribunda	3	2	1	-	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-
Prunus cerasus	4	3	2	1	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-
Deutzia scabra	2	1	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Hamamelis japonica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mahonia Aquifolium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Agrostemma Githago	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

2. ROSACEAEIMMUUNSERUM.

	Crataegus pectinata							Cotoneaster moupinense							Prunus cerasus						
Sorbus americana	4	3	2	1	-	-	-	4	3	2	1	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-
Crataegus pectinata	4	4	3	2	1	-	-	4	3	2	1	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-
Cotoneaster moup.	4	3	2	1	-	-	-	4	3	3	2	1	-	-	3	2	1	-	-	-	-
Prunus cerasus	1	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	4	3	2	1	(1)	-	-
Galega officinalis	1	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-
Cytisus scoparius	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-
Pisum sativum	2	1	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-
Deutzia scabra	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Lythrum salicaria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Delphinium hybridum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eleagnus edulis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cornus mas	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Cornus sanguinea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2. UMBELLIFLORENIMMUUNSERUM.

	Petroselinum sativum							Myrrhis odorata							Cornus mas						
Petroselinum sativum	4	3	2	1	-	-	-	4	3	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Myrrhis odorata	4	3	2	1	-	-	-	4	3	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cornus mas	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Cornus sanguinea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	2	1	-	-	-
Galega officinalis	1	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cytisus scoparius	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Deutzia scabra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hedera Helix	2	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600	1: 400	1: 800	1: 1600	1: 3200	1: 6400	1: 12800	1: 25600
--	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------	--------	--------	---------	---------	---------	----------	----------

4. HAMAMELIDACEAE IMMUNSERUM.

Pisum sativum	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galega officinalis	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crataegus pectinata	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malus floribunda	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lythrum salicaria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OenotheraLamarckiana	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hamamelis japonica	4	3	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sedum stoloniferum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hedera Helix	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Deutzia scabra	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Petroselinum sativum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cornus mas	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Cornus sanguinea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3. KUNSTSERUMREACTIES.

	Pisum	Galega	Cytisus	Sorbus	Malus	Prunus	Crataegus	Cotoneaster	Deutzia	Cornus mas	Cornus sanguinea	Petroselinum	Myrrhis	Hamamelis
Pisum sativum.....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galega officinalis .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cytisus scoparius .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbus americana .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malus floribunda .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Prunus cerasus.....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crataegus pectinata .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cotoneaster moupinense...	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Deutzia scabra .....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cornus mas.....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cornus sanguinea .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Petroselinum sativum ....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Myrrhis odorata.....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hamamelis japonica .....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Agrostemma Githago ....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

## LITERATUURLIJST.

- ALEXNAT, W., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Sympetalen. Bot. Arch., 1922, I, 129.
- ANKERMANN, Die Phylogenie der Monocotylen. Bot. Arch., 1927, XIX, 1.
- ARZT, H., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Gerste mit besonderer Berücksichtigung des Eiweiss-Ausgleiches innerhalb der präzipitierenden Lösungen. Bot. Arch., 1926, XIII, 117.
- AZUMA, C., Beiträge zur Studium der präzipitierenden Eigenschaften pflanzlicher Antigene. Diss. Osaka 1910, Ref. in Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther. II, Referate, 1910, 994.
- BAERNER, J., Serodiagnostische Verwandtschaftsforschungen innerhalb der Geraniales, Sapindales, Rhamnales und Malvales. Bibl. bot. 1927, 94.
- BALLNER, F., Über die Differenzierung von pflanzlichem Eiweiss mittels des Komplementbindungsreaktion. Sitz. ber. d. kais. Ak. d. Wiss., Wien. math-natw. Kl. Abt. III, 1910, CXIX, 17.
- BALLNER & BUROW, Studien über die biologische Differenzierung von pflanzlichem Eiweiss. Versuch zur Differenzierung von Leguminoseneiweiss von Varietäten einer und derselben Art. Innsbruck, Selbstverlag, 1911.
- BARIKINE, Contribution à l'étude sur la congutination du précipité spécifique. Centrbl. f. Bakt. usw. I, Orig., 1910, LVI, 150.
- BECKER, J., Serologische Untersuchung von Kornrade in Mehl und Kleie. Centrbl. f. Bakt. usw., II, Orig., 1918, IIL, 564.
- BERTARELLI, E., Die Verwendung der biologische Methoden zur Aufindung und Diagnose der Hülsenmehlfrüchte mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. Centrbl. f. Bakt. usw., II, Orig., 1904, XI, 8 en 45.
- BISSONÉ, Soc. de Biol. 23, II, 1901.
- BITZEK, E., Der Centrospermenast der Dikotylen. Bot. Arch., 1928, XXII, 257.
- BORDET, J., Le mécanisme de l'agglutination. Ann de l'Inst. Pasteur, 1899, XIII, 225.

- BORDET, J. & GAY, F., Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1906, XX, 467.
- BORDET, J. & STRENG, O., Les phénomènes d'adsorption et la congutine du serum de boeuf. Centrbl. f. Bakt. usw., I, Orig., 1909, IL, 260.
- CITRON, J., Über das Verhalten der Favus und Trichophytonpilze im Organismus. Ztsft. f. Hyg. u. Inf. Krk., 1905, IL, 120.
- CONRADI, A., Das System der Farne unter Berücksichtigung der Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Palaeontologie und Serodiagnostik dargestellt. Bot. Arch., 1926, XIV, 74.
- DEFALLE, W., Recherches sur le role de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1902, XVI, 595.
- DUNBAR, W. P., Über das serobiologische Verhalten der Geschlechtszellen. Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., 1910, IV, 740.
- EISENTRÄGER, O., Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für die Verwandtschaftsforschung in der Botanik, insbesondere innerhalb der Klasse der Gymnospermen unter Anwendung der Präzipitationsmethode wie der Konglutinationsmethode nach MEZ. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1928, XVI, 157.
- FELLMER, T., Differenzierung verschiedener Pilzeiweisse (mit Hilfe von Immunitätsreaktionen und Tierversuchen) Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther. 1914, XXXII, 1.
- FORSSNER, G., Über die Möglichkeit isolierte Eiweisskörper bzw. eiweiss-haltige Flüssigkeiten, welche aus einem und demselben Organismus stammen, durch Präcipitinreaktion zu differenzieren. Münchener med. Wochensft., 1905, no. 19, 892.
- FRANZ, C., Die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für die botanische Verwandtschaftsforschung mit besonderer Berücksichtigung der Monocotyledonen. Diss. Berlin, 1928.
- FRIEDBERGER, E. & MEISSNER, G., Untersuchungen über Typen der Präzipitation. Klin. Wochensft., 1922, I, 1248.
- GASIS, D., Über die Unterscheidung verschiedener Pflanzeneiweissarten mit Hilfe spezifischer Sera. Berliner Klin. Wochensft. 1908, XLV, 358.
- GALLI VALERIO, B. & BORNAND, M., Quelques recherches avec un serum précipitant pour l'albumine du tournesol (*Helianthus annuus* L.). Ztsft. f. Imm. und exp. Ther., 1912, XV, 229.
- GILG, E. & SCHÜRHOFF, P., Serodiagnostik in der botanische Verwandtschaftsforschung. Engl. bot. Jahrb., 1926, LX, 439.
- , Unsere Erfahrungen über die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für die botanische Verwandtschaftsforschung. Ber. d. deutsche bot. Ges., 1927, XLV, 315.
- , Antikritisches zur Kritik von MEZ zu unserer Veröffentlichung: Unsere Erfahrungen über die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für



- die botanische Verwandtschaftsforschung. Ber. d. deutsche bot. Ges., 1927, XLV, 602.
- GLOCK, H., Rassenverwandtschaft und Eiweissdifferenzierung. Biol. Centrbl., 1914, XXXIV, 385.
- GOHLKE, K., Die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für den Nachweis zweifelhafter Verwandtschaftsverhältnisse im Pflanzenreich. Diss. Königsberg, 1913.
- GRIJNS, G., De serologische methoden in de botanische systematiek; voorloopige mededeeling over kunstmatig specifiek serum. Verslagen Kon. Ak. v. Wetenschappen, Amsterdam, afd. Natuurk., 1928, XXXVII, 918.
- GUTTMANN, T., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Archegoniatae. Bot. Arch., 1924, VI, 313.
- HANNIG, E. & SLATMANN, W., Phytoserologische Untersuchungen. I. Über die Ausschaltung der „Normalringe“ an der Schichtfläche zwischen Antigen und Normalserum bei der Präzipitinringmethode. Planta, 1928, V, 135.
- HELWIG, B., Serodiagnostische Verwandtschaftsforschungen innerhalb der Mez'schen Centrospermenastes. Bibl. bot., 1927, 94.
- HITOSHI KOJIMA, Serobiologische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Dikotylen und den Gymnospermen. Mitt. d. med. Fak. a. d. Kais. Kyushiu Univ. Fukuoka, 1922, VII, 223.
- HOKE, E., Über Bakterienpräzipitation durch normale Sera. Wien. Klin. Wochensft., 1907, no. 12, 347.
- HOEFFGEN, F., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Columniferenastes der Dikotylen. Bot. Arch., 1922, I, 81.
- HUHN, R., Über die Verwertbarkeit der Serodiagnostik in der Botanik, erläutert an den Sympetalen. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1928, XV, 228.
- JACOBY, M., Über Ricinimmunität. Beitr. z. chem. u. phys. path., 1902, I, 51.
- JANCHEN, E., Die Anwendung der Komplementbindungsmethode zur Ermittlung natürlicher Verwandtschaft von Tieren und Pflanzen. Mitt. d. Naturwiss. Vereins a. d. Univ. Wien 1912, X.
- , Die Methoden der biologische Eiweissdifferenzierung in ihrer Anwendung auf die Pflanzensystematik. Mitt. d. Naturwiss. Ver. a.d. Univ., Wien, 1913, XI, 1.
- KARASAWA, M., Über Anaphylaxie erzeugt mit pflanzlichem Antigen. Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., Orig., 1910, V, 509.
- KATO & MARUYANA, Serodiagnostic investigation on the affinities of

- different varieties of rice. Bult. Sc. Fac. Terk. Kiushiu Imp. Univ. 1928, III, 16.
- KIRSTEIN, K., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Gymnospermen. Diss. Königsberg, 1918 en Bot. Arch., 1922, II, 57.
- KOHZ, K., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb des Rosalesastes der Dikotylen. Bot. Arch. 1922, III, 30.
- KOKETSU, R., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Gymnospermen. Mitt. a. d. med. Fac. d. kaiserl. Univ. Kyushiu, Fukuoka, 1917, IV.
- KOWARSKI, A., Über den Nachweis von pflanzlichem Eiweiss. Deutsche med. Wochensft., 1901, XXVII, 442.
- KRAUS, R., Präzipitine in Kolle & Wassermann, Handb. b. path. Microorganismen, 1904, IV, 1, 532.
- , Über spezifische Niederschläge, *ibid.*
- LANGE, L., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Ranales. Diss. Königsberg, 1913.
- LIESKE, R., Serologische Studien mit einzelligen Grünalgen. Sitz. ber. d. Heidelberger Ak. d. Wiss., math.-naturw., Kl. 1916, Abt. B, Abh. 3.
- MAGNUS, W., Weitere Ergebnisse der Serum-diagnostik für die theoretische und angewandte Botanik. Ber. d. deutsche bot. Ges., 1908, XXVIa, 532.
- , Die Erkennung von Mehlverfälschungen durch die Serodiagnostische Methode. Landw. Jahrb., 1909, XXXVII, Erg. bd. 5, 207.
- MAGNUS, W. & FRIEDENTHAL, H., Ein experimenteller Nachweis natürlicher Verwandtschaft bei Pflanzen. Ber. d. deutsche bot. Ges., 1906, XXIV, 601.
- , Über die Specificität der Verwandtschaftsreaktion der Pflanzen. Ber. d. deutsche bot. Ges., 1907, XXV, 242.
- , Über Artspecificität der Pflanzenzelle. Ber. d. deutsche bot. Ges., 1907, XXV, 337.
- , Verhalten die somatischen und Geschlechtszellen der Pflanzen serobiologisch wie artfremde Zellen? Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., 1910, V, 337.
- MALLIGSON, F., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb des Centrospermenastes, Bot. Arch., 1922, I, 2.
- MALVOZ, E., Sur les propriétés du serum des animaux traités par les Blastomycetes. Centrbl. f. Bakt. usw., I, Orig., 1901, XXIX, 688.
- MANTEUFFEL, P., Serologische Verfahren der Nahrungsmitteluntersuchung in Abderhalden, Handb. d. biol. Arb. meth., 1928, IV, 8, 1884.

- MEZ, C., Anleitung zu serodiagnostischen Untersuchungen für Botaniker. Bot. Arch., 1922, I, 177.
- , Drie Vorträge über Stammesgeschichte. Naturwissenschaft und Landwirtschaft, 1925.
- , Die Bedeutung der Serodiagnostik für die stammesgeschichtliche Forschung Bot. Arch., 1926, XVI, 1.
- , Referat-Stolley: „Die Psilophyten“. Bot. Echo, 1925, 67.
- , Referat-Stolley: „Zur Kritik der Königsberger Serodiagnostik“. Bot. Echo, 1925, 125.
- , Referat-Wasmann: „Eiweissdifferenzierung und Stammesverwandtschaft“. Bot. Echo, 1926, 156.
- , Referat-Helwig: „Serodiagnostische Verwandtschaftsforschungen innerhalb des Mez'schen Centrospermenastes“, Bot. Echo, 1927, 185.
- , Referat-Bärner: „Serodiagnostische Verwandtschaftsforschungen innerhalb der Geraniales usw.“. Bot. Echo, 1927, 193.
- , Referat-Gilg & Schürhoff: „Unsere Erfahrungen über die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für die botanische Verwandtschaftsforschung“. Bot. Echo, 1927, 238.
- MEZ, C. & GOHLKE, K., Physiologisch-systematische Untersuchungen über die Verwandtschaften der Angiospermen. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1914, XII, 155.
- MEZ, C. & KIRSTEIN, K., Serodiagnostische Untersuchungen über die Gruppe der Gymnospermae. Ibid., 1920, XIV, 145.
- MEZ, C. & LANGE, L., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Ranales. Ibid., 1914, XII, 28.
- MEZ, C. & PREUSS, A., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Parietales. Ibid., 1914, XII, 347.
- MEZ, C. & ZIEGENSPECK, H., Zur Theorie der Serodiagnostik. Bot. Arch., 1925, XII, 163.
- , Der Königsberger serodiagnostische Stammbaum. Bot. Arch., 1926, XIII, 163.
- MIELINSKI, K., Über die Phylogenie der Bryophyta mit besonderer Berücksichtigung der Hepaticae. Bot. Arch., 1926, XVI, 23.
- MISCHKE, W., Serodiagnostische Untersuchungen über strittige Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Gymnospermae und über den Anschluss von Ceratophyllum. Bot. Arch., 1925, XI, 104.
- MORITZ, O., Zur Kritik der Phytoserologie. Biol. Centrbl., 1928, IIL, 431.
- , Weitere Beiträge zur Kritik und zum Ausbau phytoserologischer Methodik. Planta, 1929, VII, 5.
- , Betrachtungen zum „Ende“ der botanischen Serodiagnostik Beih. z. bot. Centrbl., 1929, XLVI, 2e Abt. 114.
- NAHMMACHER, E., Ueber die Brauchbarkeit künstlicher Immunsera für

- die Serodiagnostik in der botanischen Verwandtschaftsforschung. Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1929. XVII. 1.
- NAY, W., Serodiagnostische Untersuchungen innerhalb der Rosales, Myrtifloren und Umbellifloren. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1927, XV, 147.
- NEUHOFF, W. & ZIEGENSPECK, H., Morphologisch-serologische Bearbeitung des Systems der Basidiomyceten. Bot. Arch., 1926, XVI, 296.
- OTTENSOOSER, F., Serologische Differenzierung von Hefen. Bot. Arch., 1927, XVII, 147.
- PREUSS, A., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaften innerhalb der Pflanzengruppe der Parietales diss. Königsberg, 1914 en Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1917, XIII, 459.
- RAUBITSCHKE, H., Zur Kenntnis der Immunantiphytalbumine. Wiener klin. Wochensft., 1909, 1752.
- RELANDER, L., Kann man mit der Präzipitationsreaktion Samen von verschiedenen Pflanzenarten und Abarten von ein ander unterscheiden? Centrbl. f. Bakt. usw., II, 1908, XX, 518.
- REUTER, K., Die Phylogenie der Parietales. Bot. Arch., 1926, XVI, 118.
- RAEDER, F., Serodiagnostische Untersuchungen über strittige Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Dikotylen. Bot. Arch., 1924, VII, 9.
- ROSENBLAT-LICHTENSTEIN, S., Über die Differenzierung von Algen mit Hilfe spezifischer Agglutinine. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt. 1912, 415; 1913, 95.
- SALZMANN, W., Ergänzende serodiagnostische Untersuchungen. Bot. Arch., 1924, VIII, 3.
- SANFELICE, F., Über die Immunität gegen Blastomyceten. Centrbl. f. Bakt. usw., I, 1896, XX, 219.
- SASSE, F., Untersuchungen über Pflanzenkultsera nach Mez und ihre Verwendbarkeit für die botanische Verwandtschaftsforschung. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1928, XVI, 351.
- SAULI, J., Über den Nachweis von verschiedenartigem pflanzlichen Eiweiss durch Konglutination. Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., 1911, IX, 359.
- SCHERN, K., Experimentelle Beiträge zur praktischen Verwertbarkeit der Anaphylaxie. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde, 1910, XXXVI, Supplementband 590. Referat in Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., II, Referate, 1910, 334.
- SCHMIDT, W., Herkunftsermittlung bei Kiefersaatgut. Forstl. Wochensft., Silva 1926, XIV, 233.
- SCHUSSNIG, B., Kritisches Referat über „Steinecke, Der Stammbaum der Algen nach serodiagnostischen Untersuchungen dargestellt.“ Ztsft. f. ind. Abst. u. Vererb. Lehre, 1926, XL, 240.
- SCHÜTZE, A., In Sitz. Ber. d. Ges. d. Charité Ärzte 12, XII, 1901.

- SCHÜTZE, A., Weitere Beiträge zum Nachweis verschiedener Eiweissarten. Ztsft. f. Hyg. u. Inf. Krk., 1901, XXXVIII, 85.
- , Ueber weitere Anwendungen der Präzipitine. Deutsche med. Wochensft., 1902, XXVIII, 809.
- , Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten mittels Agglutinine. Ztsft. f. Hyg. u. inf. Krk., 1903, XLIV, 423.
- , Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten auf dem Wege der Komplementbindung. Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., 1911, VIII, 611.
- SKCHIWAN, Contribution à l'étude du sort des levures dans l'organisme. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1899, XIII, 770.
- SLATMANN, W., Phytoserologische Untersuchungen, II, Vergleichende Untersuchungen über die Kapillarmethode mit Phosphat, die Kapillarmethode ohne Phosphat und die Mezsche Präzipitationsreaktion. Planta, 1928, VI, 277.
- STEINECKE, F., Der Stammbaum der Algen nach serodiagnostische Untersuchungen dargestellt. Bot. Arch., 1925, X, 82.
- , Referat-Schussnig: „Referat über Steinecke: Der Stammbaum der Algen usw.“ Bot. Echo, 1925, 146.
- STOLLEY, E., Die Psilophyten. Jahresber. d. Niedersächsischen geol. Ver. (Geol. Abt. d. Naturhist. Ges. z. Hannover), 1925, XVIII, 39.
- , Zur Kritik der Königsberger Serodiagnostik. Ibid., 1926, XIX, 1.
- , Das Ende der Königsberger Serodiagnostik. Ibid., 1927, XX, 97.
- STURM, K., Monographische Studien über Adoxa Moschatellina L. Vierteljahrsft. d. naturf. Ges. in Zürich, 1910, XXV.
- THÖNI, J. & THAYSEN, A., Versuche zur Herstellung von spezifisch wirkenden Getreideantiseris für den Nachweis von Mehlfälschungen. Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., 1915, XXIII, 83.
- UHLENHUTH, P. & WEIDANZ, O., Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweissdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung sowie der Gewinnung präzipitierender Sera. Jena, 1909.
- WÄCHTER, H., Berlin gegen Königsberg; ein wissenschaftliches Duell. Apothekerszeitung, 1927, XLII, 840.
- , Königsberger Getöse. Ibid., 1927.
- WASMANN, C., Eiweissdifferenzierung und Stammesverwandtschaft. Die Naturwissenschaften, 1926, XII, 504.
- WELLS, H. G., The chemical aspects of immunity, New York, 1925.
- WENDELSTADT & FELLNER. Beiträge zur Kenntnis der Immunisierung durch Pflanzeneiweiss. Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., 1911, VIII, 43.
- WERMUND, R., Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für die botanische Verwandtschaftsforschung, mit besonderer Berücksichtigung der Reihe der Rhoeadales, sowohl unter Anwendung

- der Präzipitationsmethode, als auch der Konglutinationsmethode nach Mez. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1928, XVI, 39.
- WETTSTEIN, R. VON, Die Bedeutung der serodiagnostische Methode für die phylogenetische-systematische Forschung. Ztsft. f. ind. Abst. u. Vererb. Lehre, 1925, XXXVI, 442.
- WILKOEWITZ, K. & ZIEGENSPECK, H., Die verschiedenen Generationen und Jugend- und Alterformen in ihrer Einwirkung auf den Ausfall der Präzipitation. Bot. Arch. 1928, XXII, 229.
- WILENKO, M., Ueber das Präzipitationsvermögen pflanzlicher Eiweissstoffe. Ztsft. f. Imm. u. exp. Ther., I, 1910, V, 91.
- WORSECK, E., Serodiagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Monocotylen. Bot. Arch., 1922, II, 177.
- ZADE, Serologische Studien an Leguminosen und Gramineen. Ztsft. f. Pfl. züchtung, 1914, II, 101.
- ZARNACK, H., Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Serodiagnostik für die botanische Verwandtschaftsforschung, erläutert an der Reihe der Ranales. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1927, XV, 180.
- ZIEGENSPECK, H., Der serologische Stammbaum des Pflanzenreiches und die Phytopalaeontologie. Bot. Arch., 1925, IX, 37.
- , Kritisches und Strittiges. Bot. Arch., 1926, XVI, 218.

## STELLINGEN.

### I

Bij het opstellen van den serologischen stamboom van MEZ en ZIEGENSPECK is een vooropgestelde meening van grooten invloed geweest.

### II

De indeeling van de Angiospermen door HUTCHINSON in houtachtige en kruidachtige gewassen, is phylogenetisch niet te verdedigen.

### III

De antilichamen, die volgens KOSTOFF na enten in ent en onderstam zouden ontstaan, hebben geen invloed op het slagen van de enting.

(KOSTOFF, Genetics 1929. p. 37.)

### IV

Op het Internationaal Congres voor Nomenclatuur in 1930 dienen de tautologische namen verworpen te blijven.

### V

De in de moderne entomologische literatuur veel voorkomende opvatting, dat „monokultuur” de eenige oorzaak is van insectencalamiteiten, is onjuist.



## VI

Het is aanvechtbaar om bij de vaststelling van het kiemkracht-cijfer van klaverzaad de in het kiembed aangetroffen onontkiemd gebleven hardschalige korrels, voor de helft mede in rekening te brengen.

## VII

De „zaadlijsten” hebben voor het internationale ruilverkeer geen beteekenis, zoolang bastaardeering van de daarin genoemde soorten niet voorkomen wordt.

## VIII

Ter voorkoming van algeheele ontsiering van het Nederlandsche landschap, is het noodzakelijk, het verder aanbrengen van daarin storende elementen te staken en zoo mogelijk te verwijderen.

## IX

Een zoologische leerstoel aan de Landbouwhoogeschool is een dringende behoefte.